Aus der Universitäts-Hals-Nasen-Ohren-Klinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Wullstein

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON KANAMYCIN UND SEINEN SPALTPRODUKTEN SOWIE VON 2,4-DINITROPHENOL AUF DIE MIKROPHONPOTENTIALE DES MEERSCHWEINCHENS

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Kurt Elser

aus Heilbronn

Würzburg, den 31. 5. 1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543512_0091

Aus der Universitäts-Hals-Nasen-Ohren-Klinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Wullstein

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON KANAMYCIN UND SEINEN SPALTPRODUKTEN SOWIE VON 2,4-DINITROPHENOL AUF DIE MIKROPHONPOTENTIALE DES MEERSCHWEINCHENS

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Kurt Elser

aus Heilbronn

Würzburg, den 31. 5. 1972

Referent: Professor Dr. med. H. Wullstein

Korreferent: Priv. Doz. Dr. med. H. -G. Schmitt

Dekan: Professor Dr. med. K.H. Weis

Tag der mündlichen Prüfung: 27. 7. 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I	Einleitung	1
II	Das Antibiotikum Kanamycin und seine Spaltprodukte	3
	A) Entdeckung, Struktur, Resorption, Wirkungsspektrum, Verteilung und Ausscheidung	3
	B) Akute Toxizität	6
	C) Semichronische Toxizität	7
	D) Spezifische Toxizität	8
	a) Nephrotoxizität	8
	b) Vestibularis-Toxizität	8
	c) Cochlearis-Toxizität	9
	1) Unbedingte Hörreflexe (Preyer-Reflex)	9
	2) Elektrophysiologisches Verhalten	10
	3) Histologische Untersuchungen	12
	3' Lichtmikroskopie	12
	3'' Phasenkontrastmikroskopie	13
	3''' Elektronenmikroskopie	14
	E) Biochemie	15
	a) Sauerstoffverbrauch	15
	b) Nukleinsäuresynthese und Proteinstoffwechsel	15
III	2,4-Dinitrophenol und der Sauerstoffverbrauch in der Cochlea	17
	A) Struktur, Resorption und Ausscheidung	17
	B) Biochemie des 2,4-Dinitrophenol	17
	a) DNP als Entkoppler der oxydativen Phosphorylierung	17
	b) DNP als Aktivator der Mitochondrien- und Myosin-ATPase	18
	C) Akute Toxizität	19
	D) Chronische Toxizität	19
	E) Spezifische Toxizität	20

Seite

IV Experimenteller Teil 21

1) Methodik 21

A) Operative Vorbereitungen 21

B) Versuchsdurchführung 22

C) Elektronischer Aufbau 23

2) Ergebnisse 25

A) Mathematische Grundlagen zur Auswertung 25

B) Berechnung der Parameter 27

C) Code-Nummer der Perfusionssubstanzen 28

D) Graphische Darstellung der Parameter 28

E) Beeinflussung der Parameter durch die Methode 59

F) Allgemeine Versuchsübersicht 66

G) Zusammenfassung der Ergebnisse 67

VI Diskussion 78

VII Zusammenfassung 83

VIII Literaturverzeichnis I - VI

I. EINLEITUNG

In den letzten Jahren hat die Wirkungsweise chemischer Substanzen auf das Innenohr zunehmendes wissenschaftliches und praktisches Interesse gefunden. Von klinischer Bedeutung sind nach wie vor die Aminoglycosid-Antibiotika wie Streptomycin, Kanamycin und Gentamycin. Der Schwerpunkt liegt nicht mehr in der Erforschung der pharmakologischen und toxikologischen Eigenschaften dieser Substanzen, diese sind im wesentlichen bekannt. Heute steht das Bemühen im Vordergrund, weitere Hinweise zur Ototoxizitätsursache dieser Substanzen zu finden. Nur die Kenntnis darüber, ob die Toxizität des Kanamycins auf das Gesamtmolekül oder auf seine Spaltprodukte wie 3-Glucosamin und 6-Glucosamin zurückzuführen ist (OWADA), kann uns in die Lage versetzen, die Toxizität zu kompensieren.

Eine vorwiegend wissenschaftliche Fragestellung dieser Arbeit bestand darin, den Einfluß des Sauerstoffs auf die Mikrophonpotentiale zu untersuchen. Sieht man von den möglichen Nebenwirkungen auf die ATPase ab, so läßt sich durch 2, 4-Dinitrophenol über die Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung die Wirkung von Sauerstoff auf die Mikrophonpotentiale demonstrieren.

Genau definierte Substanzen und Konzentrationen können nur via Cochleaperfusion an den Wirkungsort gebracht werden. Durch andere Applikationsarten wird diese Forderung nicht erfüllt. Ein kontinuierlicher Austausch der Perilymphe gegen in Ringerlösung gelöste Testsubstanzen ist relativ einfach zu erreichen. In letzter Zeit hat v. ILBERG gezeigt, daß zwischen der Scala tympani und dem Tunnelsystem des Cortischen Organs eine Verbindung besteht, die es sogar nicht gelösten Teilchen erlaubt, von der Perilymphe her unmittelbar an die Sinneszellen zu gelangen.

Das elektrophysiologische Verhalten der Cochlea bei Perfusion verschiedener Testsubstanzen kann mit Hilfe der von WEVER und BRAY (1930) entdeckten Mikrophonpotentiale verfolgt werden. Mit dieser Methode ist es möglich, qualitative und quantitative Störungen der Schallempfindung zu

registrieren. Der Verlauf des Mikrophonpotentials bei Schalldruckerhöhung wurde hierzu wiederholt vor, während und nach der Perfusion mit Testsubstanzen gemessen und durch jeweils 3 Parameter dargestellt. Die zeitliche Änderung dieser Parameter enthält die komprimierte Information über die Schädigung des Ohres.

Folgende Testsubstanzen wurden verwendet:

I Kanamycin
II 3-Glucosamin + 6-Glucosamin
III 3-Glucosamin
IV 2, 4 - Dinitrophenol

Das Hauptziel dieser Arbeit liegt in der Beantwortung folgender Fragen:

1) Wie verändern sich die Parameter der Mikrophonpotential-Schalldruckkurve unter dem Einfluß der oben genannten Testsubstanzen?

2) Werden Parameter nicht nur durch die Perfusion der Testsubstanzen, sondern auch durch die Methode als solche beeinflußt?

3) Läßt sich eine Korrelation zwischen Konzentration und Struktur der Substanz sowie einem oder mehreren Parametern der Kurve herstellen?

4) Kann aus dem Parameterverlauf auf Ototoxizität geschlossen werden?

II. DAS ANTIBIOTIKUM KANAMYCIN UND SEINE SPALTPRODUKTE

A) ENTDECKUNG, STRUKTUR, RESORPTION, WIRKUNGSSPEKTRUM, VERTEILUNG UND AUSSCHEIDUNG

Kanamycin wurde 1957 von UMEZAWA (1958) und seinen Mitarbeitern entdeckt. Es handelt sich um ein Aminoglycosid-Antibiotikum, das von Streptomyces kanamyceticus gebildet wird. Die Substanz ist farblos. Sie löst sich als Sulfat gut in Wasser. Wegen der polaren Struktur ist sie in vielen organischen Lösungsmitteln nur wenig löslich. Die Wasserlöslichkeit von Kanamycin beträgt bei pH 7 und 25° etwa 360 mg/ml. Das Wirkungsoptimum liegt bei pH 7,6 - 8 d. h. im basischen Bereich, in dem ein gewisser Anteil als freie Base vorliegt. Bei einem Serumzusatz von 5 - 50 % variieren die Hemmwerte nicht mehr als um den Faktor 2. Man schließt daraus, daß Kanamycin nicht an Serumproteine gebunden wird. Nach oraler Gabe wird Kanamycin in großen Konzentrationen mit den Faeces ausgeschieden. Die Resorption ist selbst bei hohen oralen Dosen gering (WALTER und HEILMEYER).

Alle Dosierungs- und Aktivitätsangaben erfolgen auf Gewichtsbasis und werden auf die freie Base bezogen. (1 g Kanamycin-Sulfat entspricht 800 mg Kanamycin-Base).

Chemisch-physikalische Daten nachfolgender Substanzen (RAUEN):

Kanamycin-Base A:	Summenformel $C_{18}H_{36}N_4O_{11}$
	Molekulargewicht 484,5
Kanamycinsulfat A:	Summenformel $C_{18}H_{36}N_4O_{11}.H_2SO_4$
	Molekulargewicht 600,6
3-Glucosamin:	Summenformel $C_6H_{13}O_5N.HCL$
	Molekulargewicht 215,64

6-Glucosamin: Summenformel $C_6H_{13}O_5N.HCL$

Molekulargewicht 215, 64

Das Innenohr wurde mit folgenden Lösungen perfundiert:

1) Kanamycin "Grünenthal" (Kanamycinsulfat)

Konzentration in:		Anzahl der Versuche
mg%	mMol/l	
100	1,67	4
500	8,33	5
800	13,32	6
1200	19,98	5

2) 1:1-Gemisch von 3-Glucosamin und 6-Glucosamin

Konzentration in:		Anzahl der Versuche
mg%	mMol/l	
350	16,23	5
370	17,16	2
720	33,39	5
1250	57,97	3
1350	62,60	5

3) 3-Glucosamin

Konzentration in:		Anzahl der Versuche
mg%	mMol/l	
600	27,82	5

Kanamycin läßt sich in 3 Komponenten trennen: Kanamycin A, B und C.

Kanamycin A besteht chemisch aus 2 Aminozuckern, 6-Amino-6-deoxy-D-glucose = 6-Glucosamin und 3-Amino-3-deoxy-D-glucose = 3-Glucosamin = Kanosamin, die über 2-Deoxystreptamin an C-4 beziehungswiese C-6 glycosidisch gebunden sind. UMEZAWA (1968) untersuchte mit der Röntgenstrah-

lenanalyse die absolute Struktur von Kanamycinmonosulfat und schlägt dafür folgende Formel vor:

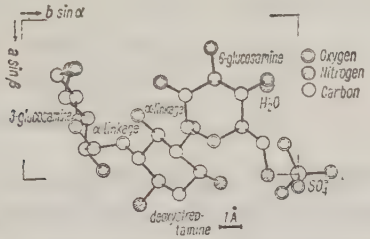


Abb. 1: Absolute Struktur von Kanamycinmonosulfat (UMEZAWA)

Dabei ergeben sich folgende mittlere Atomentfernungen im Kanamycinmolekül: S-O (4) 1,48 Å, C-C (16) 1,55 Å, C-N (4) 1,45 Å, C-O (15) 1,45 Å.

Kanamycin B hat nach ITO et al. (Aus Umezawa 1968) 2,6-diamino-2,6-dideoxy-D-glucose anstelle von 6-Glucosamin. Die Struktur von Kanamycin C wurde von MURASE et al. (Aus Umezawa 1968) aufgeklärt. Hierbei wird 6-Glucosamin durch 2-amino-2-deoxy-D-glucose ersetzt.

Die antibiotische Wirkungsbreite von Kanamycín umfaßt zahlreiche grampositive und gramnegative Keime, vor allem auch die säurefesten Tuberkelbakterien. Je nach Empfindlichkeit der Erreger beziehungsweise der Konzentration im Blut und Gewebe hat Kanamycin eine bakteriostatische oder bakterizide Wirkung (HELWIG, 1970).

STUPP et al. (1965, 1967) untersuchten das Verhalten des Kanamycinspiegels nach einmaliger Injektion von Kanamycinsulfat in Peri- und Endolymphe im Blut und in verschiedenen anderen Organen. Dabei stellten sie mit Hilfe des Agardiffusionsverfahrens fest, daß die Kanamycinkonzentrationen in Peri- und Endolymphe annähernd gleich und im Verhältnis zu anderen Organen unerwartet hoch waren. Die Halbwertszeit des Kanamycinspiegels lag mit etwa 15 Stunden weit über dem anderer Organe. Im Blut betrug die Halbwertszeit nur etwa 85 Minuten.

Vergleich der Kanamycinkonzentrationen (ug/ml) der einzelnen Organe 5 und 18 Stunden nach einer Injektion von 250 mg Kanamycin/kg Körpergewicht (STUPP et al.)

Std. post inj.	Endolymphe	Perilymphe	Serum	Herz	Leber	Gehirn
5	16,5	20,5	10,01	0,94	0,76	0,162
18	8,8	8,8	1,17	0,15	0,16	0,018

Auf Grund der langen Halbwertszeit von 15 Stunden ist die Gefahr der Kumulation ohne weiteres gegeben. STUPP et al. (1967) zeigten, daß nach einer längeren Behandlung von täglichen Kanamycininjektionen (250 mg) der Kanamycinspiegel in der Perilymphe beträchtlich ansteigt. Nach 10 Injektionen enthielt die Perilymphe 59 % mehr Kanamycin als nach einer einzigen Injektion von 250 mg Kanamycin/kg Körpergewicht.

Interessant ist, daß die Ausscheidung umso schneller vor sich geht, je höher die Kanamycinkonzentration in der Perilymphe ist. Dieser Vorgang ist leicht durch Diffusion zu erklären.

Die Elimination von Kanamycin aus den Körperflüssigkeiten erfolgt ziemlich rasch durch einfache glomeruläre Filtration der Nieren (TISCH, 1958), so daß in den üblichen therapeutischen Dosen keine Kumulationsgefahr bei gesunden Nieren besteht.

B) AKUTE TOXIZITÄT

Bei der intravenösen Applikation letaler Dosen basischer Streptomycesantibiotika zeigt sich beim Warmblütler folgendes Vergiftungsbild: Während und unmittelbar nach der Injektion geraten die Tiere in einen Erregungszustand, der bald in eine allgemeine Lähmung übergeht und unter Atemstillstand zum exitus letalis führt. Bei näherer Untersuchung wurde eine verminderte Gerinnungsfähigkeit des Blutes, eine Lähmung der quergestreiften Muskulatur und ganglienblockierende Effekte festgestellt. Die biochemische Analyse ergab ein Absinken der Calcium-Ionen im Blut, wobei das Gesamtcalcium unverändert blieb. (MÜCKTER, 1961).

OWADA (1962) fand nach intravenöser Applikation an die Maus für Kanamycin und seine Spaltprodukte folgende LD_{50}-Werte:

Substanz	LD_{50} in mg/kg
Kanamycin	214
2-Deoxystreptamin.2HCl	337
3-Glucosamin.HCl	2080
6-Glucosamin.HCl	1600

Diese Ergebnisse zeigen, daß nach intravenöser Applikation die Hydrolysate eine geringere allgemeine Toxizität haben als Kanamycin selbst.

C) SEMICHRONISCHE TOXIZITÄT

Bei täglichen Injektionen (subkutan 20 Tage) von 100 bis zu 1250 mg Kanamycin pro Kilogramm Körpergewicht fand OWADA (1962) während und nach den Injektionen noch normales Gedeihen bei der Maus.

LAGLER (1961) injizierte je 20 männlichen Albinomäusen (Körpergewicht 20 g) täglich Kanamycinmonopantothenat, -dipan-tothenat und -tripantothenat im Vergleich zu Kanamycinsulfat in einer Konzentration von 400 mg/kg subkutan. Nach einer Behandlungsdauer von 45 Tagen waren von den mit Kanamycinsulfat behandelten Tieren 30 % gestorben, während die Sterblichkeit in der Monopantothenat-Gruppe 20 % und in der Tripantothenat-Gruppe 5 % betrug. In der Dipantothenat-Gruppe traten keinerlei Verluste ein. Als Ursache für die Schäden werden antienzymatische Wirkungen diskutiert, die im wesentlichen das Coenzym-A betreffen. So stellten LICHSTEIN und GILFILLAN (1951) bei Saccharomyces-Arten fest, daß Streptomycin die Kupplung von Pantoyllacton und β-Alanin und damit die Pantothensäuresynthese hemmt. Damit deutet sich eine Erklärung für die Befunde an, wonach Pantothensäure, wesentlicher Baustein von Coenzym A, in der Lage ist, die durch wiederholte Antibiotika-Gaben hervorgerufenen Schäden zu mindern (MÜCKTER, 1961).

D) SPEZIFISCHE TOXIZITÄT

a) Nephrotoxizität:

Aus Versuchen von LAGLER et al. (1960) geht hervor, daß Kanamycin in der Niere angereichert wird. Er führte Versuche an Ratten durch, bei denen er den Kanamycinspiegel in Serum, Niere und Harn 24, 48 und 72 Stunden nach einer einmaligen Dosis von 20 mg Base/kg bestimmte. Dabei war im Serum kein Kanamycin mehr nachweisbar, während Niere und Harn noch beachtliche Mengen aufwiesen. Nach 48 Stunden fiel der Kanamycinspiegel im Harn unter die erfaßbare Größe. In der Niere betrug er 72 Stunden nach der Applikation immer noch 10 µg.

KUNTZ (1962) beobachtete insgesamt 101 Patienten, die durchschnittlich 91,7 g Kanamycin in 109,3 Tagen erhielten. Dabei kam es bei 70 - 80 % aller Kranken zu einer "akuten (toxischen) Tubulusschädigung" und zwar bei etwa 40 % der Fälle zu einer leichten, bei etwa 25 % zu einer mittelschweren und bei etwa 10 % zu einer stärkeren Nierenschädigung. Diese klinischen Nierenbefunde bildeten sich bei etwa 90 % der Kranken innerhalb von 5 Wochen nach Behandlungsende wieder zurück.

Bei sechs Patienten mit chronischer Pyelonephritis traten erheblich stärkere Nierenbefunde auf, so daß Kanamycin bereits nach 13 - 28 g abgesetzt werden mußte. Bei einer intermittierenden Behandlung mit Kanamycin (z. B. 2 x 1 g 3 mal/Woche) waren die pathologischen Nierenbefunde geringer ausgeprägt und häufiger reversibel als bei täglicher Anwendung.

b) Vestibularis-Toxizität:

Während bei Streptomycin die Schädigung des Gleichgewichtsorgans im Vordergrund steht, zeigt sich bei der Anwendung von Kanamycin kaum eine schädigende Wirkung. Subkutane Dosen von 400 mg Base/kg der Kanamycinpantothenate und des -sulfats, fünfmal wöchentlich über eine Versuchszeit von 45 Tagen verabreicht, riefen nach LAGLER bei Mäusen keine Gleichgewichtsstörungen hervor. Die Vestibularisfunktion wur-

de anhand des postrotatorischen Nystagmus und des Schwimmtestes nach CAUSSE et al. geprüft. Ähnliche Versuche an Ratten und Meerschweinchen brachten dieselben Ergebnisse.

Gleiche Dosen Streptomycinsulfat dagegen führten unter den gleichen Versuchsbedingungen zu ausgeprägten Vestibularisschäden, wie sie sich in dem vollständigen Erlöschen des Nachnystagmus und dem Verlust der Schwimmfähigkeit manifestierten (LAGLER, 1960).

HAWKINS (1959) dagegen beschrieb, daß Katzen nach täglicher Kanamycingabe von 500 mg/kg nach 21 - 24 Tagen Ataxien zeigten.

c) Cochlearis-Toxizität:

Zur Prüfung der Schallwahrnehmung und damit zur Objektivierung von Hörschäden stehen bei Versuchstieren mehrere Möglichkeiten zur Verfügung:

1) Unbedingte Hörreflexe (Preyer-Reflex)

Mit Hilfe des Preyerschen Ohrmuschelreflexes kontrollierten LAGLER et al. (1960) die Cochlearisfunktion bei Ratten. Die Tiere wurden 17 Wochen lang (5mal pro Woche) mit 2mal 200 mg Base/kg subkutan behandelt. Dabei wiesen die mit Kanamycin behandelten Tiere eine Herabsetzung des Hörvermögens um 55 - 57 Dezibel auf. Ähnlich starke Hörschäden riefen auch Kanamycinmono- und tripantothenat hervor. Die mit Kanamycindipantothenat behandelten Ratten zeigten zwar auch eine Hörschädigung, die jedoch gegenüber den "Kanamycinsulfat-Tieren" signifikant geringer war.

Entsprechende Versuche mit Kanamycin und seinen Hydrolysaten führte OWADA (1962) durch. Er injizierte Meerschweinchen täglich i.m. Kanamycin, 3-Glucosamin, 2-Deoxystreptamin, 6-Glucosamin und ein Gemisch der letzten drei Substanzen. Die Dosis betrug 200 mg/kg für Kanamycin und die 200 mg Kanamycin entsprechende Menge für die Hydrolysate.

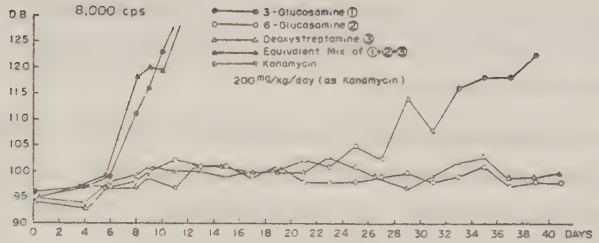


Abb. 2: Preyer-Reflex von Meerschweinchen nach einer Injektion von Kanamycin, 3-Glucosamin, 6-Glucosamin, 2-Deoxystreptamin und ein Gemisch der letzten 3 Substanzen.

Laut obigem Schaubild zeigen 3-Glucosamin und das Gemisch die größte Toxizität. Bei den mit Kanamycin behandelten Tieren wurde der Reflex nach 30 Injektionstagen abgeschwächt. 2-Deoxystreptamin und 6-Glucosamin zeigten keine Toxizität.

2) Elektrophysiologisches Verhalten (Messung der Mikrophonpotentiale)

THYBERGHEIN (1967) untersuchte 4 Meerschweinchengruppen, die sechs Wochen lang 5mal wöchentlich 100 mg/kg Körpergewicht Kanamycin als Sulfat, Monopantothenat, Dipantothenat und Tripantothenat erhalten hatten. Eine fünfte Gruppe diente als Kontrolle und erhielt jeweils eine Injektion von 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung. Drei Wochen nach der letzten Injektion prüfte er die Mikrophonpotentiale von jeweils 15 Ohren. Die Ergebnisse wurden in Dezibelverlust bezogen auf 10 mV gemessen). Bei einer Beschallungsintensität von 100 db und einer Frequenz von 1000 Hz fand er folgende Ergebnisse:

Substanz	db-Verlust auf 10 mV
physiol. NaCl	32,20 (± 6,78)
Kanamycinsulfat (5g/kg)	45,93 (± 7,68)
Kanamycinmonopantoth. (5g/kg)	36,60 (± 8,18)
Kanamycindipantoth. (5g/kg)	40,93 (± 11,87)
Kanamycintripantoth. (5g/kg)	40,00 (± 7,14)

Das Kanamycinsulfat führt also zu einer deutlichen Minderung der Mikrophonpotentiale beim Meerschweinchen. Kanamycinmonopantothenat hat dagegen unter den gleichen Versuchsbedingungen einen geringen Einfluß auf die Mikrophonpotentiale des Meerschweinchens.

Zu ähnlichen Versuchsergebnissen kamen bei Experimenten mit Katzen HAWKINS (1959), THEISSING und U.O. KEIDEL (1962), PLATTIG et al. (1967) und J. OUCHI und J. OTHANIE (1969).

Auch die elektrophysiologischen Untersuchungen von KOIDE et al. (1966) bestätigen obige Ergebnisse.

Zu den Hydrolysaten von Kanamycin liegen seither nur Untersuchungen von OWADA (1962) vor. Er leitete die Mikrophonpotentiale vom runden Fenster der Meerschweinchen ab. Die Tiere erhielten zuvor täglich eine Injektion von 200 mg/kg Kanamycin bzw. die 200 mg Kanamycin entsprechende Menge von 3-Glucosamin, 6-Glucosamin und Desoxystreptamin injiziert. Nach 20tägiger Injektion wurden die Mikrophon-Potentiale gemessen. Bei 1000 Hz und 2000 Hz fand er bei maximaler Beschallung folgende Werte in Mikrovolt:

Substanz	1000 Hz	2000 Hz
Kanamycin	110	60
3-Glucosamin	60	40
6-Glucosamin	580	315
2-Deoxystreptamin	670	580

Nach 6-Glucosamin und 2-Deoxystreptamin ist also kein signifikanter Abfall zu registrieren, während 3-Glucosamin die Mikrophonpotentiale sogar noch stärker senkt als Kanamycin.

3) Histologische Untersuchungen:

3' Lichtmikroskopische Untersuchungen:

BECK und KRAHL (1962) untersuchten 11 Meerschweinchen, die zwischen 80 und 240 mg Kanamycin/kg Körpergewicht erhalten hatten. Als erstes Zeichen fanden sie eine Stoffwechselstörung der äußeren Haarzellen, ausgewiesen durch eine Unordnung der Kernreihe, durch Schwankungen der Kerngröße und durch Schwund von Eiweiß und RNS im Plasma. Im weiteren Verlauf wurden dann auch Stoffwechselstörungen und Zelluntergänge sowohl in den inneren Haarzellen als auch an den Deiters-Zellen sichtbar. Bei allen Meerschweinchen waren die Veränderungen an der Schneckenbasis wesentlich deutlicher ausgeprägt als an der Schneckenspitze.

OSTYN und THYBERGHEIN (1968) führten präzise Untersuchungen an der Meerschweinchencochlea mit genauen statistischen Angaben durch. Sie untersuchten Tiere, die sie zuvor mit Kanamycin, Kanamycinpantothenat und Kanamycin in Kombination mit Nialamid behandelt hatten.

Bei einer Gruppe (K6), die täglich eine Dosis von 200 mg Kanamycin pro kg Körpergewicht über 30 Tage erhalten hatte, wurden die Entfernungen gemessen über die alle äußeren HZ verschwunden waren und die Entfernungen zu dem Punkt, an dem alle äußeren HZ wieder vollständig waren. Gemessen wurde vom Anfang der Basalwindung:

Meerschweinchengruppe	Fehlen der äußeren 3HZ	Äußere 3HZ vollständig
1L	10	10
5L	8,3	15,2
6R	9,4	9,4
9L	2,7	3,1
11L	6,8	8,7
12L	2	2,8
Durchschnittswert	6,53	8,2

(Aus Ostyn/Thyberghein Acta oto.-laryng. Suppl. 234)

Der Tabelle können wir entnehmen, daß die äußeren Haarzellen bis zu einer Durchschnittsentfernung von 6,53 mm fehlen, und daß sie bei den geprüften Tieren nach einer durchschnittlichen Entfernung von 8,2 mm wieder vollständig vorhanden sind.

Die Stria vascularis ist in dem Bereich, in dem die äußeren HZ völlig fehlen, bemerkenswert zerstört. Auch das Ganglion spirale ist fast bis zur Hälfte der Basalwindung leicht geschädigt.

Auch WARD und FERNANDEZ (1961) konnten beim Meerschweinchen nach Kanamycineinwirkung schwere Veränderungen am Cortischen Organ in den unteren Schneckenwindungen feststellen. Diese Befunde wurden auch durch BENITEZ et al. (1962) und MATZ et al. (1965) auch beim Menschen bestätigt.

REDDY (1962) fand, daß bei Katzen nach Kanamycingaben als erstes die Claudius-Zellen Schaden leiden und erst dann die Sinneszellen des Cortischen Organs betroffen werden.

Nach Auffassung von A. KOHONEN und J.V. TARKKANEN (1966) ist das Ausmaß der cochlearen Schädigung ganz wesentlich von der Tagesdosis, weniger von der Gesamtdosis abhängig. BRUN und STUPP zeigten, daß mit zunehmender Intoxikation der Schutzeffekt des Kanamycin-pantothenats nicht mehr in Erscheinung tritt. Die sogenannte Toleranzverbesserung wird überlagert und verdeckt.

U. WATANUKI und S. RAUCH (1969) berichten von einer teilweisen Erholung des Cortischen Organs. Vor allem wird die Vollständigkeit der Retikularmembran, trotz Verlust der äußeren Haarzellen, gewahrt.

3'' Phasenkontrastmikroskopie:

Bei Untersuchungen von Häutchenpräparationen des gesamten Sinnesepithels der Cochlea konnten HAWKINS und ENGSTRÖM (1964) beim Meerschweinchen ganz exakt den Untergang jeder einzelnen Haarzelle feststellen. Sie fanden zuerst Störungen in der Anordnung der Stereozilien der äußeren Haarzellen in der Basalwindung. Nach kontinuierlicher

Schädigung gehen dann die Stereozilien und schließlich auch die ganze Zelle zugrunde. Einzig ein Gerippe, das zur Retikularmembran gehört, bleibt zurück. Auch sie bestätigen das Fortschreiten der äußeren Haarzellschädigung von der Basis zur Spitze der Cochlea.

3''' Elektronenmikroskopische Untersuchungen:

21 Meerschweinchen wurden von LUNDQUIST und WERSÄLE nach 3, 6, 9, 12, 15 und 18 Injektionstagen von jeweils 400 mg Kanamycinsulfat/kg Körpergewicht untersucht. Wie bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen bereits erwähnt, begannen auch hier die Veränderungen in der basalen Schneckenwindung und betrafen vorwiegend die äußeren Haarzellen.

Die früheren Veränderungen manifestierten sich am Kern mit Chromatinverklumpung, Schwellen der Kernmembran, Schädigung der Mitochondrien mit vesiculären Cristae mitochondriales und Bildung von Lamellenstrukturen. Die Lysosomen verschwanden früh aus dem Cytoplasma. Sogar in schwer geschädigten Zellen erschienen Haare und Cuticula intakt. Erst in den Endstadien waren Plasmamembran, Haar und Cuticula bis auf Reste zerstört.

FARASHIDY et al. (1963) bestätigten die Meinung, daß die größten Veränderungen des Cortischen Organs hauptsächlich in den äußeren Haarzellen beobachtet werden. Er sah allerdings schon von Anfang an einen Verlust der Haare und eine Auflösung der Cuticula.

E) BIOCHEMIE

a) Sauerstoffverbrauch

O. MIZUHASHI und J.F. DALY (1967) haben den Sauerstoffverbrauch in jeder Windung der Meerschweinchenschnecke mit einem Differential-Mikrospirometer gemessen. Sie verwendeten dazu 35 normale und 22 mit Kanamycin (400 mg für 5, 10 und 20 Tage) geschädigte Meerschweinchen. Den Sauerstoffverbrauch von jeder einzelnen Windung drücken sie aus in Microliter Sauerstoff auf Milligramm Trockengewicht Cochlea verbraucht in 60 Minuten. Diesen Wert nennen sie QO_2. Dabei stellten sie fest, daß der basale Anteil der Cochlea einen größeren Sauerstoffverbrauch pro mg Gewebe hatte als die Spitze. Die durch Kanamycin geschädigten Schnecken hatten einen herabgesetzten Sauerstoffverbrauch. Dies wird durch folgende Ergebnisse dokumentiert:

Der QO_2 jeder Windung bei einer normalen Cochlea sei 100. Der QO_2 der mit Kanamycin geschädigten Cochlea sei ausgedrückt in Prozent von dem normalen Wert.

So beträgt der QO_2 nach 5tägiger Behandlung 75,5 % in der vierten Windung und der Spitze, 80,6 % in der dritten Windung, 66,8 % in der zweiten Windung und 68,8 % in der Basalwindung.

b) Nukleinsäuresynthese und Proteinstoffwechsel

Die Frage nach der Ursache der Ototoxizität der basischen Streptomyces Antibiotika muß nach wie vor unbeantwortet bleiben. Möglicherweise sind alle bekannten Effekte, wie Schädigung der zytoplasmatischen Membran, Veränderungen in der Zellwand und die Beeinflussung der oxydat. Phosphorylierung, Sekundäreffekte als Folge einer Hemmung der Proteinsynthese sowie einer Änderung der Permeabilitätsschranke. Sicher ist nur, daß die Proteinsynthese in Gegenwart von Streptomycin (ähnlich dürfte es bei Kanamycin sein) momentan gehemmt wird, ohne Beeinflussung der

DNS- und RNS-Synthese (DELLWEG 1966).

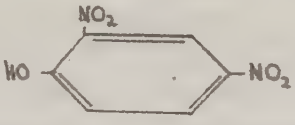
GARNI (aus Dellweg 1966) konnte ferner zeigen, daß die Aminoglycosid-Antibiotika eine fehlerhafte Ablesung des genetischen Codes verursachen. Durch Polyuridylsäure als Messenger-RNS wird normalerweise nur Phenylalanin eingebaut; der Code dieser Aminosäure heißt UUU. In Gegenwart der Antibiotika wird der Phenylalanin-Einbau verringert (s. S. 7), gleichzeitig werden aber auch Isoleucin mit dem Code AUU und Serin mit dem Code UCU eingebaut.

Diese Ergebnisse ermöglichen auch eine Erklärung für das Auftreten der sogenannten bedingt Streptomycin-abhängigen Mutanten.

III. 2, 4-DINITROPHENOL (DNP)

A) STRUKTUR, RESORPTION und AUSSCHEIDUNG

2, 4-Dinitrophenol ist eine sauer reagierende Substanz, die schnell vom Gastrointestinaltrakt resorbiert wird. Sie wirkt als Elektronenakzeptor und reagiert mit Aminen, wobei ein CT-Komplex als Intermediat anzusehen ist. In früheren Zeiten wurden Lösungen des Natriumsalzes als Abmagerungsmittel subkutan injiziert (MOESCHLIN). 2, 4-Dinitrophenol hat folgende Strukturformel:



Summenformel: $C_6H_4N_2O_5$

Molekulargewicht: 184, 11

Dissoziationskonstante der Säure: $8,13.10^{-5}$ (KORTÜM et al.).
Die Verbindung wird von der Niere ausgeschieden, teils unverändert, teils als Reduktionsprodukt 2-amino-4-nitrophenol (GOODMAN et GILMAN).

B) BIOCHEMIE DES 2, 4-DINITROPHENOL

a) DNP als Entkoppler der oxydativen Phosphorylierung

Die eigentliche Energiequelle der aeroben Zelle ist die Atmung, ein Prozeß, durch den Nährstoffe unter Beteiligung von Luftsauerstoff enzymatisch oxydativ abgebaut werden. Die an der Atmungskette beteiligten Enzyme kommen nicht freigelöst im Cytoplasma vor, sondern sind in den Mitochondrien gebunden und in spezifischer Weise räumlich angeordnet.

Die Atmungskette ist der gemeinsame Weg, über den formal Elektronen von $NADH_2$ auf O_2 übertragen werden. In der aeroben Zelle ist der Sauerstoff der letzte Elektronenakzeptor. Aus dem Potentialgefälle über die

Atmungskette zieht die Zelle den eigentlichen "großen Gewinn". Beim Durchwandern der Atmungskette geben die Elektronen einen beträchtlichen Teil ihrer Energie ab, die dann in Form von ATP konserviert wird (LEHNINGER). DNP entkoppelt die Atmungskettenphosphorylierung, wobei der Elektronentransport ungehindert weiterläuft. DNP verursacht dabei keine Hydrolyse der Zwischenprodukte bei der oxydativen Phosphorylierung, es verhindert vielmehr die Rückbindung des "Kupplungsenzyms" zu nicht phosphorylierten Substanzen (PINCHOT, GRABE). Unter diesen Bedingungen wird kein ATP gebildet und die Oxydationsenergie von Glucose geht vollständig als Wärme verloren.

b) DNP als Aktivator der Mitochondrien- und Myosin-ATPase

Bei Stimulierung der Mitochondrien-ATPase durch eine 0,1 mMol DNP-Lösung steigt die ATPase-Aktivität bei einer Temperatur von 20° und einem pH von 7,3 von 1,8 µg P auf 160 µg P an. Wird anschließend DNP mit einer isotonischen Lösung aus den Mitochondrien ausgewaschen, so zeigt sich eine Reversibilität des Vorgangs. Die durch Ca^{++} aktivierte Myosin-ATPase wird unter optimalen Bedingungen durch DNP um das 2 - 2,5fache gesteigert. (S.V. PERRY und J.B. CHAPELL).

O.T.G. JONES und W.A. WATSON hatten bei ihren Versuchen an den Rattenmitochondrien eine durch DNP ($9,2.10^{-5}$ mMol) erzeugte Aktivitätssteigerung der ATPase um den Faktor 6 zu verzeichnen. MYERS und SLATER konnten zeigen, daß das Ausmaß der ATPase-Aktivierung sowohl von dem jeweiligen pH, als auch von der DNP-Konzentration abhängt. So nimmt die durch DNP bedingte Aktivitätssteigerung der Mitochondrien-ATPase bei einer 0,5 mMol DNP-Lösung bereits wieder steil ab (HEMKER).

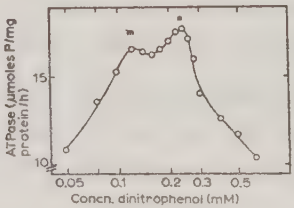


Abb. 3: The ATPase–2,4-dinitrophenol concentration activity curve. pH 7.1.

(HEMKER)

Die DNP-Konzentration, die zur Innenohrperfusion verwendet wurde, betrug 20 mg% = 1,09 mMol/l.

Die nachfolgend aufgeführten Toxizitäten können als Folge der Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung und der Aktivierung gewisser ATPasen verstanden werden.

C) AKUTE TOXIZITÄT

Akute Vergiftungserscheinungen von DNP verlaufen außerordentlich rasch. Im Vordergrund stehen gastrointestinale Störungen, schmerzhafte Koliken, Durchfälle, hohes Fieber, starker Durst und profuse Schweiße. Lippen und Ohren sind deutlich zyanotisch und die Haut zeigt eventuell eine leichte ikterische Verfärbung. Der Puls ist frequent und arrhythmisch und es besteht eine schwere Dyspnoe, wobei vor allem die Inspiration erschwert ist. Im Finalstadium kommt es zum Auftreten von Krämpfen, Delirien und schließlich zu Koma und Exitus im Lungenödem.

D) CHRONISCHE TOXIZITÄT

Subjektiv ist das Vergiftungsbild charakterisiert durch Kopfschmerzen, Mattigkeit, neurovegetative Labilität mit Neigung zu starkem Schwitzen, Wärmegefühl, Bauchschmerzen und Appetitlosigkeit. Objektiv findet sich eine leichte Gelbfärbung der Haut, starke Gewichtsabnahme, Steigerung des Grundumsatzes und der Temperatur. Weiterhin zeigt sich auch eine Vermehrung von Milchsäure und Azeton im Blut und als Folge der Herzschädigung Zyanose, Tachykardie und Blutdruckabfall. Ganz typisch ist der eventuell erst nach Monaten in Erscheinung tretende subkapsuläre Star (MOESCHLIN).

E) SPEZIFISCHE TOXIZITÄT

Die Bildung des Mikrophonpotentials wird wesentlich von einer gleichmäßigen Sauerstoffzufuhr mitbestimmt (MISRAHY et al. (1958) und VOSTEEN, 1964). Es wird kleiner, wenn die Zufuhr entweder durch Verschluß der Trachea (H.J. GERHARDT und H. WAGNER) oder durch Unterbrechung des Blutzustromes durch temporäre Erhöhung des Innenohrdruckes (R. THALMANN et al.) oder durch fermentative Vergiftung zum Stillstand gebracht wird. Die Haarzellen selbst besitzen eine fermentative Ausstattung, die ihnen die Sauerstoffatmung ermöglicht (VOSTEEN, 1957).

HODGKIN und KEYNES schalteten den aktiven Na^+-Transport durch die Axonmembran des Tintenfisch-Nerven mit DNP aus. Der Na^+-Ausstrom sinkt innerhalb von 30 Minuten auf einen kleinen Bruchteil des Anfangswertes ab, um nach dem Auswaschen des Stoffwechselgiftes wieder auf den Anfangswert anzusteigen.

Auf die Mikrophonpotentiale ist die Wirkung von DNP reversibel. PRAZMA (1969) perfundierte zwischen der 10. und 15. Minute eines einstündigen Versuches die Scala vestibuli mit einer 1.10^{-2} Mol DNP-Ringerlösung. Der größte Abfall wurde in der 18. Minute registriert, als die Mikrophonpotentiale fast bis auf den Nullwert abgesunken waren. Der Effekt von DNP war aber nur kurzdauernd. Die Mikrophonpotentiale stiegen nach der 18. Minute wieder an und erreichten in der 40. Minute die Ausgangswerte. Dies steht in Einklang mit der biochemischen Wirkung von DNP auch auf ATPasen (S.V. PERRY et J.B. CHAPPEL).

In den vorliegenden Versuchen mit wiederholten Perfusionen unter definierten Bedingungen konnte dies bestätigt werden, wie später gezeigt wird.

IV. EXPERIMENTELLER TEIL

1) METHODIK

A) Operative Vorbereitungen:

Als Versuchstiere wurden Meerschweinchen beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 200 bis 500 g verwendet. Die nach Prüfung des Preyerschen Ohrmuschelreflexes als hörtauglich befundenen Tiere erhielten eine Intraperitoneal-Narkose mit 20 %iger wässriger Urethanlösung. Die Dosierung betrug 0,6 ml pro 100 g Körpergewicht. Eine wesentliche Beeinflussung der Mikrophonpotentiale durch eine Urethannarkose findet nach JUNG und LEGOUIX nicht statt.

Die eigentliche Operationstechnik wurde in einer etwas modifizierten Art nach RAUCH (1964) durchgeführt:

Um die Tiere zu schonen, wurde der operative Eingriff so klein wie möglich gehalten. Zuerst wurde ein kreisförmiger Schnitt entlang der unteren Mandibularkante geführt. Nach Unterbindung und Durchtrennung der A. cervicalis subcutanea und der V. jugularis superficialis wurde die Mandibula frakturiert. Nach teilweiser Abtragung des Processus styloideus und der daran entspringenden Muskeln wurde die Bulba frei sichtbar. Nach Freipräparierung der Bullaoberfläche konnte die Bulta selbst mit einem großen Zahnbohrer eröffnet werden. Diese Öffnung wurde mit einer kleinen Pinzette soweit vergrößert, daß das ganze Mittel- und Innenohr frei lag. Der Kopf des Tieres wurde dann mit einem Kopfhalter fixiert.

Die weiteren Operationsschritte wurden nun mit Hilfe eines binokularen Operationsmikroskopes (25 - 40fache Vergrößerung) ausgeführt.

Zuerst wurde die Elektrode im Bereich der dritten Windung auf die Cochlea aufgesetzt und mit einem Gewebekleber Histo-acryl-N-azul (Firma Braun Melsungen) auf dieser und an dem Bullarand fixiert. Die Elektrode selbst bestand aus einem Silberdraht (Durchmesser 0,1 mm),

der aus Isolationsgründen bis zur Spitze in eine Glaskapillare eingeschmolzen war. Die jetzt vorgenommene Mikrophonpotentialmessung bei Beschallung mit 1250 Hz orientierte über die Mikrophonpotentiale bei unangebohrter Cochlea. In die mit einer kleinen Ahle vorgebohrten Löcher der Scala tympani und Scala vestibuli der Basalwindung wurden nun Glaskapillaren entsprechender Größe eingesetzt und mit Histoacryl-N-azul angeklebt. Die in die Scala tympani eingesetzte Kapillare war über einen PVC-Schlauch (Lichte Weite 0,5 mm, Länge 50 cm) mit dem Vorratsgefäß verbunden und diente somit als Zuflußkapillare. Die jeweilige Perfusionsflüssigkeit durchströmte die ganze Cochlea, um dann über die zweite, in die Scala vestibuli eingesetzte Kapillare, wieder abzufließen.

Das Ausflußloch in der Scala vestibuli war etwas größer als das Einflußloch. Dadurch war eine ungehinderte Flüssigkeitszirkulation gewährleistet und ein Rückstau mit einer Erhöhung des hydrostatischen Druckes ausgeschlossen.

B) Versuchsdurchführung

Bei den Versuchen handelt es sich um Kurzzeitversuche, wobei in einigen Fällen 2 Tiere intermittierend gemessen wurden. Die Versuchsdauer betrug eine bis maximal drei Stunden. Grundsätzlich wurde folgendes Perfusionsschema durchgeführt:

1) Isotonische Ringerlösung DAB 7
   (Na^+ 147,1 mval/l, K^+ 4,0 mval/l, Ca^{++} 4,5 mval/l, Cl^- 155,6 mval/l, pH ca. 5,8)
2) Testsubstanz in Ringer DAB 7 gelöst.
3) Isotonische Ringerlösung DAB 7.

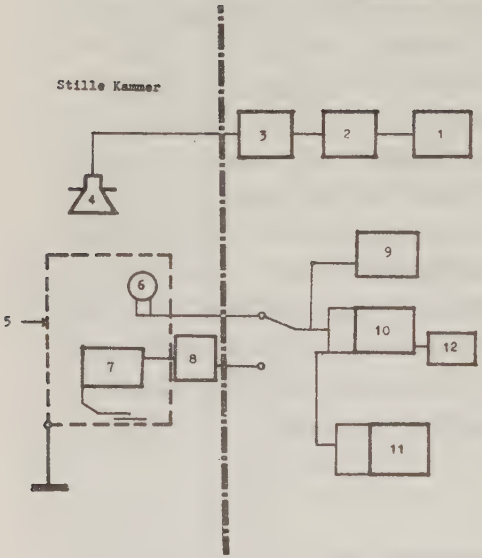
Durch die primäre Perfusion mit Ringerlösung konnten Potentialänderungen gegenüber dem unangebohrten Zustand leicht erkannt werden. Ein kontinuierlicher und permanenter Abfall der Mikrophonpotentiale während der Perfusion mit Ringerlösung mußte als Schädigung des Rezeptororgans gedeutet werden und führte in der Regel zum Abbruch des Versuches.

Nach Austausch des Vorratsgefäßes konnte die Perfusion der Testsubstanz eingeleitet werden. Sämtliche Testsubstanzen (Kanamycin "Grünenthal", 3-Glucosamin + 6-Glucosamin, 3-Glucosamin und 2,4 - DNP "Merck") wurden unmittelbar vor Versuchsbeginn in isotonischer Ringerlösung DAB 7 gelöst und mit Natriumhydrogencarbonat auf einen pH von 7,2 bis 7,4 eingestellt. Die Perfusionsgeschwindigkeit betrug 0,4 bis 2,4 ml pro Stunde. Je nach Substanz und Perfusionsgeschwindigkeit wurde eine Perfusionsdauer der Testsubstanz von 10 bis 90 Minuten eingehalten. Anschließend wurde nochmals über 15 - 30 Minuten mit Ringerlösung perfundiert, um eine Ausspülung der Perilymphräume von Substanzresten zu erzielen. Es sollte dadurch geprüft werden, ob durch diese Perfusion eine partielle oder totale Regeneration der Mikrophonpotentiale erreicht werden kann.

C) Elektronischer Aufbau

Die Messungen wurden bei einer konstanten Beschallungsfrequenz von 1250 Hz durchgeführt. Die Tonfrequenz wurde aus einem Bruel und Kjaer Beat Frequency Oscillator (Typ 1022) gewonnen und durch ein nachgeschaltetes Programmschaltwerk in 4 dB-Schaltstufen von 42 bis 110 dB bezogen auf $2 \cdot 10^{-4}$ mikrobar gesteigert. Die dB_{SL}-Stufen wurden mit einem Meßmikrophon von Bruel und Kjaer (Typ 4132) am Beginn jeder Messung kontrolliert. Das Mikrophon ist in einem Faradayschen Käfig nahe der Meerschweinchencochlea angebracht. Die Beschallungsdauer jeder einzelnen Schaltstufe kann je nach Versuchsbedingung variabel eingestellt werden. Zwischen den einzelnen Meßfolgen wurde eine Pause von 30 - 60 Sekunden eingehalten. Ein nachgeschalteter Transistor-Endverstärker speist einen 40 Watt Lautsprecher, der sich 75 cm oberhalb der Meerschweinchencochlea befindet.

SCHALTBILD



1 = Tongenerator Brüel und Kjäer Type 1022
2 = Schrittschaltwerk, Werkstatt-Eigenbau
3 = Endverstärker 30 Watt, Werkstatt-Eigenbau
4 = Lautsprecher Isophon 40 Watt
5 = Faraday-Käfig
6 = Meßmikrophon Brüel und Kjäer Type 4132
7 = Versuchstier
8 = Vorverstärker Tektronix Type 122
9 = Oscilloskop Tektronix Type 502
10 = Mikrophonverstärker Brüel und Kjäer Type 2603
11 = Bandpaßfilter Brüel und Kjäer Type 1612
12 = Pegelschreiber Brüel und Kjäer Type 2305

Die erhaltenen Potentiale werden mit einem Tektronix - Vorverstärker 1000fach (60 dB) verstärkt. Am Eingang des Meßgerätes (Mikrophonverstärker) sind somit Spannungen von maximal 1 mV, die gleichzeitig auf einem Oszilloskop (Typ 502 Tektronix) aufgezeichnet werden. Parallel zum Mikrophonverstärker ist ein Bandpaßfilter (Terzfilter) geschaltet. Er eliminiert alle Nebenfrequenzen und ermöglicht somit die Registrierung der Mikrophonpotentiale bei einer definierten Frequenz.

Die Mikrophonpotentiale wurden auf einem High Speed Level Recorder graphisch registriert. Als interne Normierung wurden vorwiegend 50 dB_U entsprechend 316 Mikrovolt (effektive Wechselspannung) verwendet.

Das Programmschaltwerk gestattete uns die alternierende Messung zweier Versuchstiere.

Nach Übertragung der Zahlenwerte auf Datenträger erfolgte die Auswertung auf einer IBM 1800.

2) ERGEBNISSE

A) Mathematische Grundlagen zur Auswertung

Die Registrierung des Mikrophonpotentials ist eine Methode zur Untersuchung des elektrophysiologischen Verhaltens der Cochlea bei Perfusion mit verschiedenen Testsubstanzen. Mißt man das Potential bei verschiedenem Schalldruck, so ergibt sich in doppelt logarithmierter Darstellung eine Aussteuerungskurve. Um eine solche Mikrophonpotential-Schalldruckkurve, die im Prinzip aus unendlich vielen Meßpunkten besteht, mit fixen Daten wie Konzentration, Substanz, usw. korrelieren zu können, muß sie auf eine minimale Anzahl von Funktionsparametern gebracht werden.

Zur Formulierung des Mikrophonpotentials nehmen wir fünf Hypothesen an:

I Das Mikrophonpotential wird von den Haarzellen erzeugt

II Bei einer Frequenz werden nur definierte Haarzellpopulationen ganz oder teilweise angeregt. (Frequenzspezifität)

III Eine Haarzelle aus dieser Population kann entweder angeregt oder nicht angeregt sein (Alles- oder Nichts-Gesetz). Bei Anregung generiert sie ein definiertes Potential.

IV Die Zunahme der angeregten Haarzellen (dN_{ang}) aus der betreffenden Population ist bei Erhöhung des Schalldruckes (dp) proportional einer Konstanten K_1 und proportional der Anzahl der nicht angeregten Haarzellen ($N_{total} - N_{ang}$).

V Das generierte Mikrophonpotential ist proportional der beim Schalldruck p angeregten Haarzellen ($N_{ang\ p}$) und einer Konstanten K_2 also $K_2 \cdot N_{ang\ p}$.

Die mathematische Formulierung der genannten Hypothesen:

$$\frac{d\,N_{ang}}{dp} = K_1 \cdot (N_{total} - N_{ang}) \qquad (1)$$

$$\frac{d\,N_{ang}}{N_{tot.} - N_{ang.}} = K_1 \cdot dp \qquad (2)$$

$$-\ln (N_{tot.} - N_{ang.}) \Big|_{p_1}^{p_2} = K_1 \cdot p \Big|_{p_1}^{p_2} \qquad (3)$$

$$-\ln (N_{tot} - N_{ang\ p_2}) - \ln (N_{tot} - N_{ang\ p_1}) = K_1 \cdot p_2 - K_1 \cdot p_1 \qquad (4)$$

Für die weitere Berechnung sei $p_1 = O$ und $p_2 = p$:

$$-\ln \frac{(N_{tot} - N_{ang\ p})}{(N_{tot} - N_{ang\ p_o})} = K_1 \cdot p \qquad (5)$$

$$N_{tot} - N_{ang\ p} = (N_{tot} - N_{ang\ p_o}) \cdot e^{-K_1 p} \qquad (6)$$

$$N_{ang\ p} = N_{tot} - (N_{tot} - N_{ang\ p_o}) \cdot e^{-K_1 p} \qquad (7)$$

Aus V und 7 ergibt sich/

$$\underbrace{K_2 \cdot N_{ang\ p}}_{CM} = \underbrace{K_2 \cdot N_{tot}}_{A_1} \underbrace{- K_2 \cdot (N_{tot} - N_{ang\ p_o})}_{A_2} \cdot \overbrace{e^{-K_1 p}}^{B} \qquad (8)$$

$$CM = U = A_1 + A_2 \cdot e^{B \cdot p} \qquad (9)$$

Die Gleichung (9) beschreibt die Aussteuerungskurve der Mikrophonpotentiale hinreichend für eine Haarzellpopulation. In der vorliegenden Arbeit wurde von dieser ersten Näherung Gebrauch gemacht.

Auf Grund der Arbeitshypothese müßte für die Spontanaktivität = O (d. h. wenn beim Schalldruck ON_{ang} gleich Null ist) $A_1 + A_2$ innerhalb der Fehler gleich O sein. Um dies zu zeigen, ist es notwendig, A_1 und A_2 unabhängig voneinander zu berechnen.

Aus den späteren Rechnungen kann ersehen werden, daß dies tatsächlich der Fall ist und daß die Relation im Verlauf des Versuchs immer besser erfüllt wird. Dies mag ein Hinweis dafür sein, daß in den ersten Zyklen bei unangebohrter Cochlea noch andere Bedingungen vorliegen oder, daß in diesen Fällen die 5-parametrige Darstellung unsere Hypothese besser befriedigen könnte.

Sind jedoch 2 Haarzellpopulationen vorhanden, man sei nur an die verschiedenen Eigenschaften der äußeren und inneren Haarzellen erinnert, so kann die Gleichung zu

$$CM = A_1 + A_2 . e^{B_1 \cdot p} + A_3 . e^{B_2 \cdot p}$$

erweitert werden. Bei i Populationen würde sich folgende Funktion ergeben:

$$CM = A_1 + \sum_{i=1}^{i} A_{i+1} . e^{B_1 \cdot p}$$

B) Berechnung der Parameter

Ausgangsgleichung: $U = CM = A_1 + A_2 . e^{B.p}$

Minimalisierungsbedingung:

$$\sum (U - A_1 - A_2 . e^{B.p})^2 = \text{Minimum} \qquad (1)$$

Die Gleichung (1) wurde nach dA_1, dA_2 und dB differenziert. Nach Umformung ergaben sich folgende Gleichungen:

$$A_1 . n + A_2 \sum e^{B.p} = \sum U$$

$$A_1 . \sum e^{B.p} + A_2 . \sum e^{2B.p} = \sum U . e^{B.p}$$

$$A_1 . \sum E^{B.p} + A_2 . \sum p . e^{2B.p} = \sum U . p . e^{B.p}$$

Aus den ersten zwei Gleichungen wurden A_1 und A_2 eliminiert und so in Gleichung 3 eingesetzt, daß nur noch die Unbekannte B enthalten war. Für B wurden dann versuchsweise Werte von 0,01 - 12 eingesetzt und der Wert gesucht, bei dem sich iterativ B_n von B_{n+1} um nicht mehr als 0,01 % unterschied. Rückläufig konnten dann auch die Parameter A_1 und A_2 errechnet werden.

C) Code-Nummer der Perfusionssubstanzen (Als Chart in den Abbildungen)

2,4-Dinitrophenol:	21
3-Glucosamin+6-Glucosamin:	22
Kanamycin:	23
3-Glucosamin:	24

D) Graphische Darstellung der Parameter:

Die nachfolgenden Abbildungen demonstrieren den Effekt verschiedener Testsubstanzen bei verschiedener Konzentration auf die Parameter der Aussteuerungskurve. Es wird stets der gesamte zeitliche Verlauf der Parameter komprimiert bzw. expandiert auf 49 Zeilen dargestellt. Auf der Ordinate sind die gemittleten Zyklennummern aufgetragen, auf der Abszisse die Werte von A_1, A_2 und B. Aus unserer Arbeitshypothese folgt, daß B stets kleiner als O ist. Da der Parameter B wesentlich kleiner als A_1 und A_2 ist, wurde er zur graphischen Darstellung mit 400 multipliziert. Die Darstellungsform wird durch den größten und kleinsten Parameterwert limitiert. Die Parameter werden in den Abbildungen durch folgende Zeichen dargestellt:

A_1 = ▰▰▰▰▰▰▰▰▰▰▰▰.

A_2 = ▬▬ : ▬▬ : ▬▬ : ▬▬

B = ▬▬▬▬▬▬▬▬

Die den graphischen Darstellungen folgenden Tabellen (Tab. 1 - 6) beinhalten folgende Daten:

1 = A_1 (/uVolt) 2 = A_2 (/uVolt)

3 = B (400 x/ubar^{-1}) 4 = Summe von $A_1 + A_2$

5 = Fehler von A_1 6 = Fehler von A_2

7 = Fehler von B 8 = Summe U

9 = U_{max} = die in einem Zyklus gemessene maximale Spannung 10 = U_{min}

11 = Rangsumme der Durchstoßpunkte (DP)
(DP = Anzahl der Schnittpunkte zwischen der experimentell ermittelten Aussteuerungskurve und der approximierten Kurve)

12 = Anzahl der Durchstoßpunkte

13 = Index des größten Mikrophonpotentials

14 = Index des kleinsten Mikrophonpotentials zwischen den Zyklen 1 - 6.

15 = Zyklusnummer

16 = Anzahl der Meßpunkte

17 = Verhältnis A_1 zu U_{max} (im E-Format)

Falls dieser Quotient stark von 1 abweicht (mehr als $\pm$ 50 %), muß auf das Vorhandensein mehrerer Haarzellpopulationen geschlossen werden.

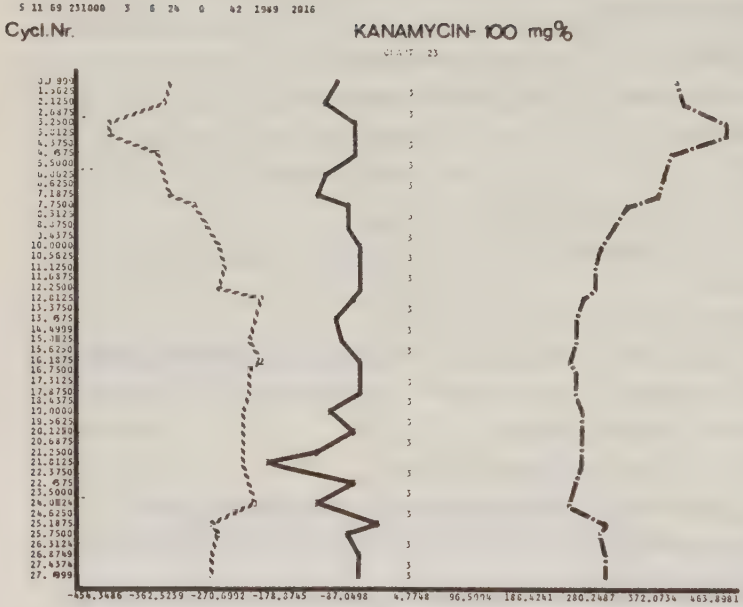


Abb. 4: 5. 11. 69

Substanz: Kanamycin

Konzentration: 100 mg% = 1,67 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1,5 ml/h

pH : 7,4

–Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 3

– –Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 6

–Erneute Ringerlösung-Perfusion ab Cycl. Nr.: 24

Eindeutiger Anstieg nach Beginn der Perfusion mit Ringerlösung. Mäßiger Abfall nach Zugabe der Testsubstanz. Partielle Regeneration nach erneuter Perfusion von Ringerlösung.

Tab. 1

5 11 69 23 1000 3 6 24 0 42 1989 2016

397.8	-360.4	-0.283	37.45	25.10	36.84	0.1108	3810.	436.	319.	28	-3	2	6	1	18	0.91E 00
403.9	-370.6	-0.320	33.35	23.25	34.72	0.1130	3923.	441.	338.	28	-3	2	6	2	18	0.91E 00
463.8	-454.3	-0.204	9.54	15.78	22.17	0.0396	3789.	501.	354.	24	-3	1	6	3	18	0.92E 00
463.8	-454.3	-0.204	9.54	15.78	22.17	0.0396	3789.	501.	354.	24	-3	1	6	4	18	0.92E 00
381.3	-375.2	-0.209	6.03	11.71	16.51	0.0365	3126.	421.	298.	24	-3	1	6	5	18	0.90E 00
376.9	-368.0	-0.319	8.87	14.61	21.82	0.0714	3451.	407.	323.	27	-3	1	6	6	18	0.92E 00
365.0	-357.1	-0.336	7.89	14.72	22.13	0.0779	3374.	393.	312.	26	-3	2	6	7	18	0.92E 00
325.0	-320.9	-0.224	4.08	6.26	8.91	0.0246	2697.	350.	266.	24	-3	1	6	8	18	0.92E 00
307.1	-305.8	-0.240	1.28	6.89	9.88	0.0303	2558.	323.	257.	40	-5	1	6	9	18	0.94E 00
286.2	-283.6	-0.193	2.59	5.64	7.88	0.0215	2262.	298.	223.	24	-3	2	6	10	18	0.95E 00
274.1	-271.7	-0.178	2.43	5.42	7.50	0.0199	2118.	285.	206.	23	-3	2	6	11	18	0.96E 00
276.7	-283.1	-0.184	-6.33	12.81	17.77	0.0466	2058.	281.	226.	30	-4	2	6	12	18	0.98E 00
255.2	-220.6	-0.209	34.65	17.93	25.28	0.0954	2395.	275.	201.	28	-3	1	6	13	18	0.92E 00
248.6	-232.8	-0.275	15.72	13.62	19.91	0.0903	2287.	268.	211.	56	-5	2	6	14	18	0.92E 00
245.5	-242.4	-0.246	3.08	5.44	7.83	0.0310	2077.	250.	204.	25	-3	1	6	15	18	0.95E 00
240.9	-222.3	-0.186	18.58	13.63	18.95	0.0641	2063.	259.	179.	27	-3	1	6	16	18	0.92E 00
244.9	-235.0	-0.191	9.90	8.35	11.64	0.0380	2009.	256.	186.	26	-3	1	6	17	18	0.95E 00
246.5	-240.0	-0.191	6.52	4.42	6.16	0.0197	1985.	256.	194.	65	-7	2	6	18	18	0.95E 00
257.7	-251.3	-0.299	6.41	6.09	9.01	0.0407	2323.	275.	223.	55	-5	1	6	19	18	0.93E 00
255.2	-251.9	-0.198	3.31	6.48	9.07	0.0286	2050.	275.	199.	23	-3	1	6	20	18	0.92E 00
254.0	-251.4	-0.337	2.57	6.06	9.12	0.0458	2318.	268.	226.	27	-3	1	6	21	18	0.94E 00
253.1	-251.4	-0.528	1.65	6.54	10.57	0.0772	2545.	265.	245.	29	-3	2	6	22	18	0.95E 00
246.2	-237.8	-0.202	8.41	5.94	8.34	0.0283	2032.	256.	197.	26	-3	2	6	23	18	0.95E 00
239.5	-231.8	-0.354	7.69	15.37	23.29	0.1320	2270.	268.	188.	53	-5	2	6	24	18	0.89E 00
293.7	-297.2	-0.118	-3.50	15.46	20.37	0.0344	1922.	288.	221.	25	-3	2	6	25	18	0.10E 01
282.1	-280.7	-0.231	1.33	8.12	11.60	0.0375	2329.	298.	226.	58	-6	2	6	26	18	0.94E 00
294.6	-289.5	-0.188	5.14	6.87	9.56	0.0250	2337.	308.	226.	24	-3	2	6	27	18	0.95E 00
290.3	-285.9	-0.191	4.38	6.07	8.46	0.0227	2311.	308.	223.	23	-3	1	6	28	18	0.94E 00

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17

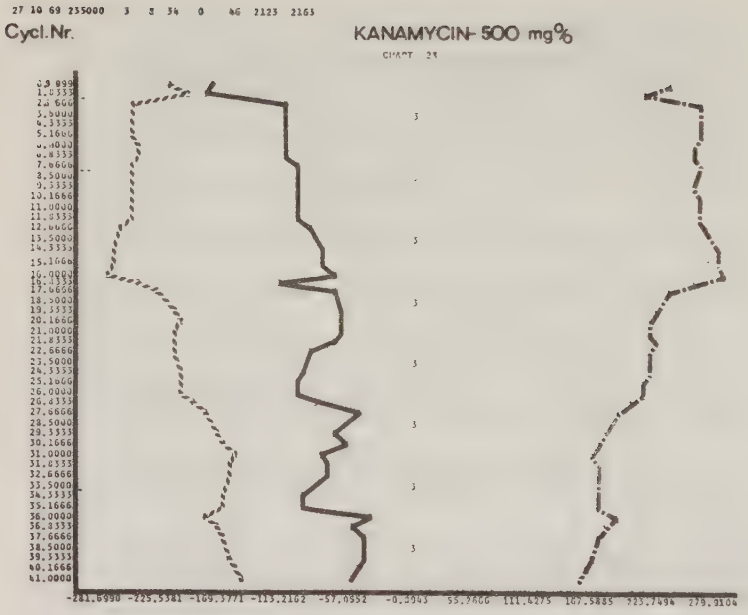


Abb. 5: 27. 10. 69

Substanz: Kanamycin

Konzentration: 500 mg% = 8,33 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 0,5 ml/h

pH : 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 3
- - Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 8
- Erneute Ringerlösung-Perfusion ab Cycl. Nr.: 34

Kurzfristiger Anstieg nach Beginn der Substanzperfusion, dann stetiger Abfall.

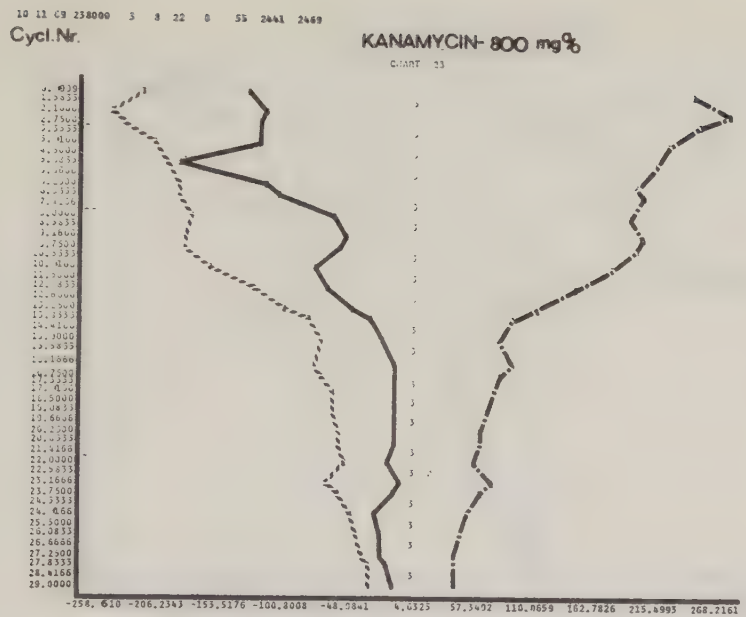


Abb. 6: 10. 11. 69

Substanz: Kanamycin

Konzentration: 800 mg% = 13,32 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1,5 ml/h

pH: 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 3

-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 8

- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 22

Geringer Abfall setzt sofort nach Perfusionsbeginn ein und überlagert sich mit der Wirkung der Testsubstanz. Partielle Regeneration nach erneuter Perfusion von Ringerlösung bleibt aus.

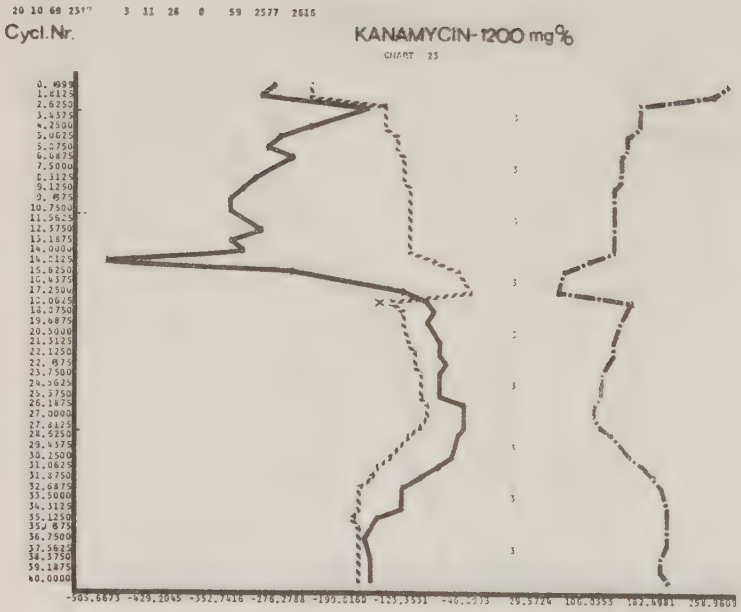


Abb. 7: 20. 10. 69

Substanz: Kanamycin

Konzentration: 1200 mg% = 19. 98 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 2, 4 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 3
-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 11
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 28

Bei X Umschaltfehler auf den Datenträgern, so daß ein verzerrter Kurvenverlauf entsteht.

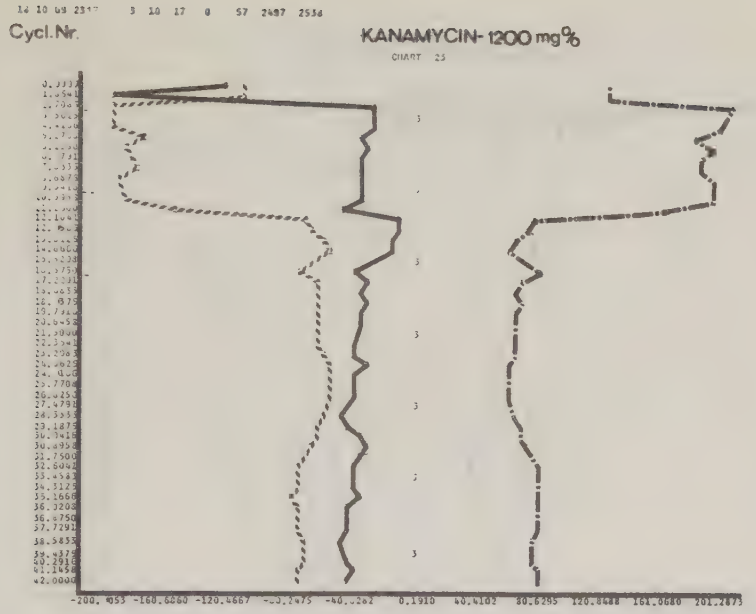


Abb. 8: 18. 10. 69

Substanz: Kanamycin

Konzentration: 1200 mg% = 19, 98 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1, 0 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 3

-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 10

- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 17

Bemerkenswerter Anstieg nach Beginn der Perfusion mit Ringerlösung. Starker Abfall nach Zugabe der Testsubstanz. Partielle Regeneration nach erneuter Perfusion mit Ringerlösung. Bei Perfusionsbeginn starker Abfall des B-Parameters.

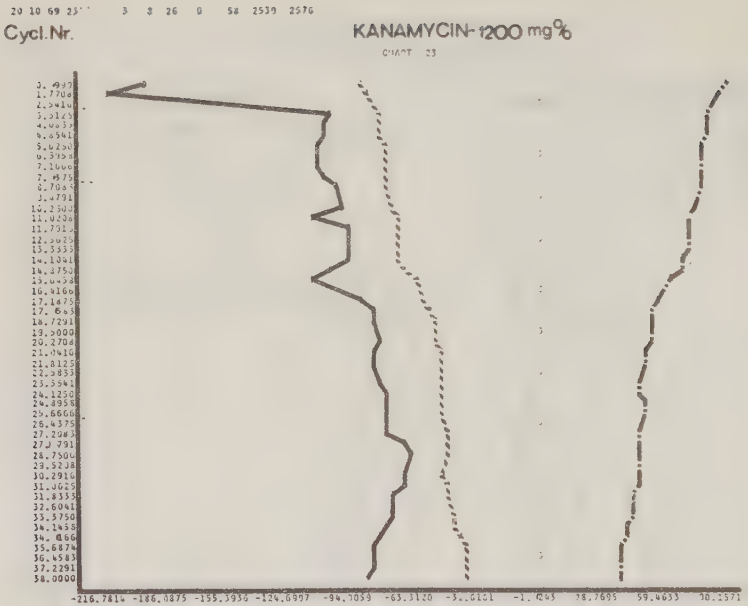


Abb.: 9: 20. 10. 69

Substanz: Kanamycin

Konzentration: 1200 mg% = 19,98 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 2,4 ml/h

pH: 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 3
-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 8
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl.Nr.: 26

Konstanter und stetiger Abfall nach Zugabe der Testsubstanz, der auch nach erneuter Perfusion von Ringerlösung noch anhält. Starker Abfall des B-Parameters bei Perfusionsbeginn.

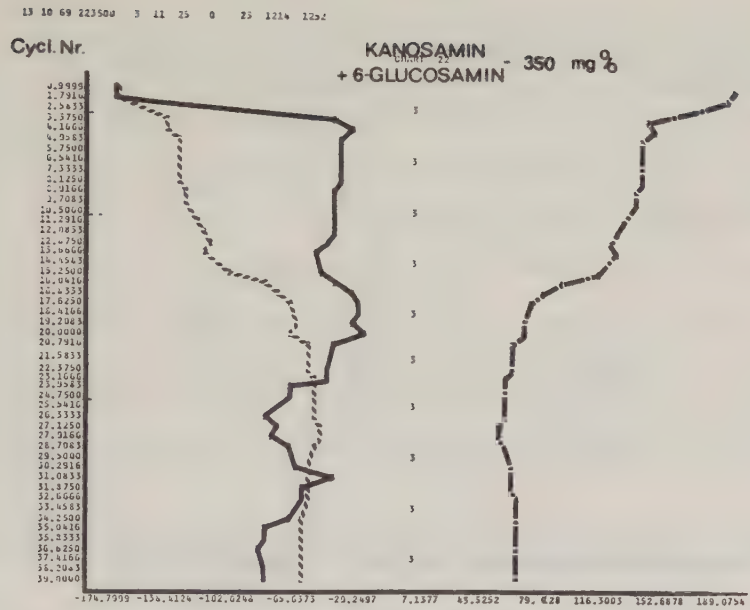


Abb. 10: 13. 10. 69

Substanz: 3-Glucosamin + 6-Glucosamin (1 : 1)

Konzentration: 350 mg% = 16,23 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1,3 ml/h

pH: 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 3
-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 11
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 25

Geringer Abfall nach Perfusionsbeginn, der aber nach fortdauernder Perfusion von Ringerlösung zum Stagnieren kommt. Nach Testsubstanz-Perfusion setzt ein starker Abfall ein, der sich nach Perfusion von Ringerlösung teilweise wieder regeneriert. Starker Abfall des B-Parameters bei Perfusionsbeginn.

Tab. 2

13 10 69 223500 3 11 25 0 23 1214 1252

189.0	-172.1	-0.436	16. #0	9.36	15.11	0.1380	1966.	208.	167.	28	-3	2	6	1	18	0.#0E 00
188.3	-173.3	-0.432	15.00	9.58	14. #7	0.1347	1940.	208.	167.	27	-3	2	6	2	18	0.#0E 00
141.4	-142.#	-0.110	-1.45	2.68	3.50	0.0115	906.	141.	89.	23	-3	1	6	3	18	0.10E 01
143.8	-144.0	-0.089	-0.23	1.45	1.85	0.0049	863.	137.	73.	35	-5	3	6	4	18	0.10E 01
137.#	-138.1	-0.102	-0.26	1.13	1.47	0.0046	878.	141.	79.	67	-8	1	6	5	18	0.97E 00
137.#	-138.1	-0.102	-0.26	1.13	1.47	0.0046	878.	141.	79.	67	-8	1	6	6	18	0.97E 00
134.7	-135.1	-0.106	-0.33	0.#6	1.25	0.0042	874.	142.	79.	54	-7	1	6	7	18	0.94E 00
134.7	-135.1	-0.106	-0.33	0.#6	1.25	0.0042	874.	142.	79.	54	-7	1	6	8	18	0.#4E 00
133.1	-132.)	-0.115	0.15	1.40	1.84	0.0068	893.	141.	81.	44	-6	1	6	9	18	0.#4E 00
133.1	-132.#	-0.115	0.15	1.40	1.84	0.0068	893.	141.	81.	44	-6	1	6	10	18	0.94E 00
124.6	-124.5	-0.111	0.14	1.47	1.#3	0.0073	828.	134.	76.	65	-6	1	6	11	18	0.92E 00
121.3	-121.3	-0.114	0.00	1.53	2.01	0.0080	811.	130.	74.	36	-4	1	6	12	18	0.93E 00
119.3	-119.0	-0.123	0.25	1.08	2.62	0.0114	822.	130.	76.	37	-4	1	6	13	18	0.91E 00
122.2	-122.4	-0.144	-0.24	2.19	2.96	0.0145	880.	133.	86.	53	-6	1	6	14	18	0.91E 00
109.1	-108.5	-0.134	0.61	1.45	1.94	0.0100	777.	118.	72.	20	-3	1	6	15	18	0.91E 00
87.6	-87.4	-0.114	0.20	1.#0	2.02	0.0130	588.	95.	51.	20	-3	1	6	16	16	0.91E 00
78.4	-78.0	-0.088	0.44	0.70	0.93	0.0041	479.	80.	41.	65	-7	1	6	17	16	0.97E 00
72.2	-72.0	-0.081	0.13	0.65	0.88	0.0036	426.	75.	35.	48	-5	1	6	18	15	0.95E 00
67.2	-67.1	-0.090	0.11	0.89	1.22	0.0060	411.	69.	36.	57	-7	1	6	19	15	0.#6E 00
68.1	-69.3	-0.068	-1.19	1.83	2.58	0.0084	361.	67.	27.	18	-3	1	6	20	13	0.10E 01
59.2	-60.2	-0.112	-0.#8	0.87	1.23	0.0082	384.	63.	35.	35	-5	1	6	21	15	0.92E 00
58.1	-58.#	-0.122	-0.77	0.75	1.08	0.0079	390.	63.	37.	30	-4	1	6	22	15	0.92E 00
57.4	-57.6	-0.126	-0.18	1.18	1.66	0.0136	393.	60.	36.	51	-6	1	6	23	16	0.#4E 00
56.2	-57.1	-0.175	-0.85	1.43	2.10	0.0261	423.	63.	42.	35	-4	1	6	24	16	0.89E 00
56.5	-56.8	-0.175	-0.33	0.94	1.38	0.0152	428.	62.	42.	33	-4	1	6	25	16	0.90E 00
54.4	-55.3	-0.212	-0.82	1.67	2.52	0.0338	434.	63.	43.	32	-4	1	6	26	16	0.86E 00
54.1	-54.2	-0.199	-0.04	1.15	1.66	0.0231	430.	61.	42.	37	-4	1	6	27	17	0.87E 00
54.1	-54.0	-0.201	0.10	1.60	2.31	0.0324	434.	63.	42.	36	-4	1	6	28	17	0.8#E 00
58.0	-57.4	-0.173	0.54	1.86	2.64	0.0305	452.	69.	43.	21	-3	1	6	29	17	0.83E 00
60.4	-60.7	-0.165	-0.29	1.50	2.12	0.0222	452.	68.	44.	35	-4	1	6	30	17	0.88E 00
60.4	-61.0	-0.118	-0.58	1.42	1.#1	0.0149	403.	66.	37.	29	-4	1	6	31	17	0.91E 00
59.8	-59.6	-0.159	0.25	1.46	2.04	0.0212	450.	68.	44.	37	-4	1	6	32	17	0.87E 00
61.8	-61.1	-0.160	0.69	1.76	2.47	0.0251	467.	68.	44.	22	-3	1	6	33	17	0.90E 00
63.3	-62.7	-0.177	0.55	1.55	2.15	0.0246	494.	71.	47.	22	-3	1	6	34	18	0.88E 00
64.5	-63.6	-0.210	0.87	2.31	3.27	0.0429	528.	71.	50.	24	-3	1	6	35	18	0.90E 00
64.4	-63.4	-0.216	0.#7	2.32	3.29	0.0445	534.	73.	50.	24	-3	1	6	36	18	0.87E 00
63.8	-62.#	-0.221	0.89	2.37	3.37	0.0469	534.	74.	50.	23	-3	1	6	37	18	0.86E 00
64.6	-63.4	-0.214	1.18	2.39	3.38	0.0452	538.	74.	50.	24	-3	1	6	38	18	0.8#E 00
65.0	-63.6	-0.218	1.38	2.70	3.82	0.0517	545.	74.	50.	25	-3	1	6	39	18	0.87E 00
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17

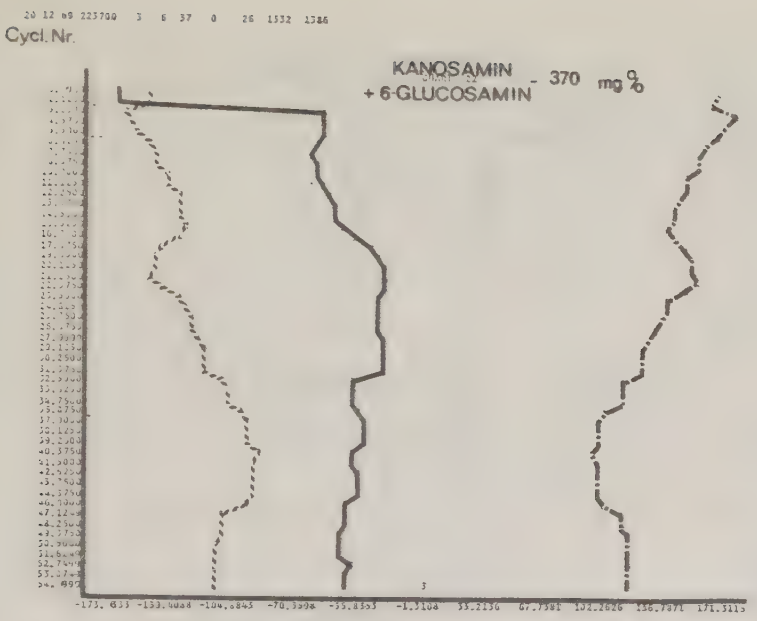


Abb. 11: 20. 12. 69

Substanz: 3-Glucosamin + 6-Glucosamin (1 : 1)

Konzentration: 370 mg% = 17,16 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1,2 ml/h

pH: 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl.Nr.: 3
-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 6
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 37

Kein stetiger Abfall während der Substanzperfusion, was auf eine kurzzeitige Stagnation der Perfusion zurückzuführen ist. Partielle Regeneration nach erneuter Perfusion von Ringerlösung. Bei Perfusionsbeginn starker Abfall des B-Parameters.

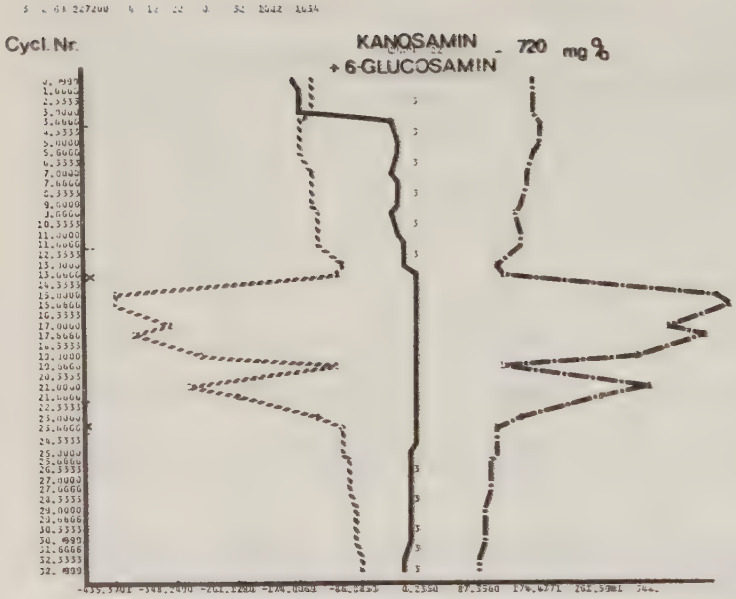


Abb. 12:3. 8. 69

Substanz: 3-Glucosamin + 6-Glucosamin (1 : 1)

Konzentration: 720 mg% = 33,39 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1,4 ml/h

pH: 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion ab Cycl. Nr.: 4
-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 12
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 22

Massiver Abfall nach Perfusion der Testsubstanz. Von X bis X lagen zu wenig Meßpunkte für eine genaue Berechnung vor.

Tab. 3

3 8 69 22 7200 4 12 22 0 32 1602 1634

160.7	-154.3	-0.436	6.43	6.52	10.20	0.1037	1616.	190.	142.	27	-3	1	6	1	18	0.84E 00
160.0	-154.4	-0.431	5.57	6.66	10.31	0.1035	1598.	188.	141.	27	-3	1	6	2	18	0.85E 00
159.1	-153.6	-0.432	5.50	7.44	11.62	0.1177	1592.	190.	141.	27	-3	1	6	3	18	0.83E 00
169.1	-167.0	-0.104	2.11	2.80	3.64	0.0097	1116.	175.	97.	40	-5	1	6	4	18	0.96E 00
168.7	-169.2	-0.084	-0.56	1.66	2.11	0.0046	993.	165.	84.	53	-7	1	6	5	18	0.10E 01
165.7	-165.6	-0.083	0.07	1.15	1.46	0.0032	979.	162.	82.	42	-5	1	6	6	18	0.10E 01
153.2	-152.7	-0.103	0.49	3.52	4.57	0.0133	991.	158.	87.	35	-5	1	6	7	18	0.96E 00
150.8	-151.7	-0.083	-0.90	1.39	1.77	0.0042	883.	151.	74.	35	-5	1	6	8	18	0.99E 00
148.0	-148.1	-0.085	-0.10	1.15	1.50	0.0035	883.	147.	76.	32	-5	1	6	9	17	0.10E 01
139.2	-140.1	-0.106	-0.80	3.01	4.00	0.0123	894.	144.	80.	35	-4	1	6	10	17	0.96E 00
145.5	-146.0	-0.068	-0.45	1.87	2.37	0.0046	790.	144.	63.	42	-6	1	6	11	17	0.10E 01
141.8	-140.4	-0.063	1.46	3.57	4.48	0.0085	768.	141.	61.	20	-3	1	6	12	17	0.10E 01
108.6	-109.1	-0.060	-0.58	2.66	3.45	0.0073	561.	113.	45.	30	-4	1	6	13	15	0.95E 00
119.0	-118.4	-0.016	0.57	0.61	0.69	0.0005	295.	77.	15.	35	-6	1	6	14	14	0.15E 01
426.9	-427.5	-0.002	-0.62	2.39	2.47	0.0003	210.	60.	8.	15	-3	1	6	15	12	0.70E 01
435.8	-435.3	-0.001	0.47	0.73	0.75	0.0000	166.	54.	7.	38	-5	1	6	16	11	0.79E 01
353.6	-353.3	-0.001	0.25	0.60	0.61	0.0000	130.	41.	6.	25	-4	1	6	17	11	0.84E 01
402.5	-402.3	-0.001	0.21	0.56	0.57	0.0000	114.	37.	5.	9	-2	1	6	18	11	0.10E 02
311.1	-310.5	-0.002	0.55	0.24	0.25	0.0000	132.	40.	5.	21	-3	1	6	19	11	0.77E 01
121.1	-120.9	-0.008	0.25	0.35	0.38	0.0002	171.	49.	8.	45	-7	1	6	20	11	0.24E 01
326.4	-326.0	-0.001	0.41	0.55	0.56	0.0000	124.	40.	6.	25	-4	1	6	21	11	0.81E 01
260.8	-260.3	-0.003	0.45	0.54	0.57	0.0001	167.	49.	8.	17	-3	1	6	22	11	0.52E 01
142.9	-142.5	-0.011	0.43	0.29	0.32	0.0001	254.	67.	12.	37	-5	1	6	23	13	0.21E 01
107.8	-107.8	-0.020	-0.01	0.73	0.86	0.0007	297.	77.	15.	18	-3	1	6	24	13	0.13E 01
105.5	-105.4	-0.027	0.18	0.28	0.34	0.0003	357.	86.	21.	32	-5	1	6	25	14	0.12E 01
100.0	-99.8	-0.032	0.25	0.56	0.68	0.0009	378.	86.	23.	60	-8	1	6	26	14	0.11E 01
101.9	-101.7	-0.029	0.20	0.36	0.44	0.0005	365.	86.	22.	72	-9	1	6	27	14	0.11E 01
97.9	-97.6	-0.033	0.25	0.60	0.73	0.0010	376.	86.	23.	49	-6	1	6	28	14	0.11E 01
95.1	-95.0	-0.036	0.15	0.53	0.65	0.0009	382.	86.	24.	37	-6	1	6	29	14	0.11E 01
91.4	-91.2	-0.039	0.26	0.54	0.68	0.0011	388.	86.	25.	68	-9	1	6	30	14	0.10E 01
95.0	-94.6	-0.036	0.39	0.79	0.98	0.0014	385.	86.	25.	26	-5	1	6	31	14	0.11E 01
81.4	-81.0	-0.043	0.44	0.46	0.59	0.0012	369.	80.	25.	46	-7	1	6	32	14	0.10E 01
81.2	-80.6	-0.041	0.56	0.54	1.19	0.0023	357.	79.	24.	18	-3	1	6	33	14	0.10E 01
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17

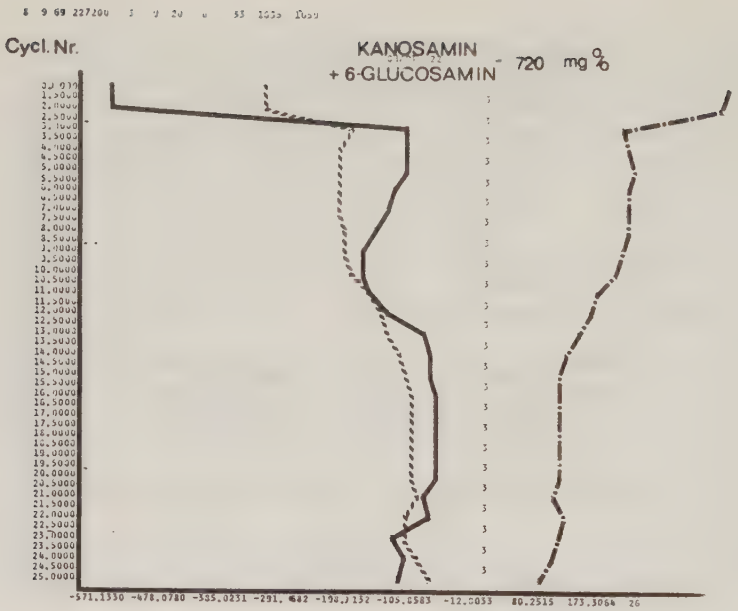


Abb. 13: 8. 9. 69

Substanz: 3-Glucosamin + 6-Glucosamin (1 : 1)

Konzentration: 720 mg% = 33, 39 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1, 9 ml/h

pH: 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 3

-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 9

- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 20

Deutlicher Abfall bei Beginn der Perfusion, der aber dann nach weiterer Perfusion mit Ringerlösung zum Stehen kommt. Langsamer, stetiger Abfall nach Zufuhr der Testsubstanz. Starker Abfall das B-Parameters bei Perfusionsbeginn.

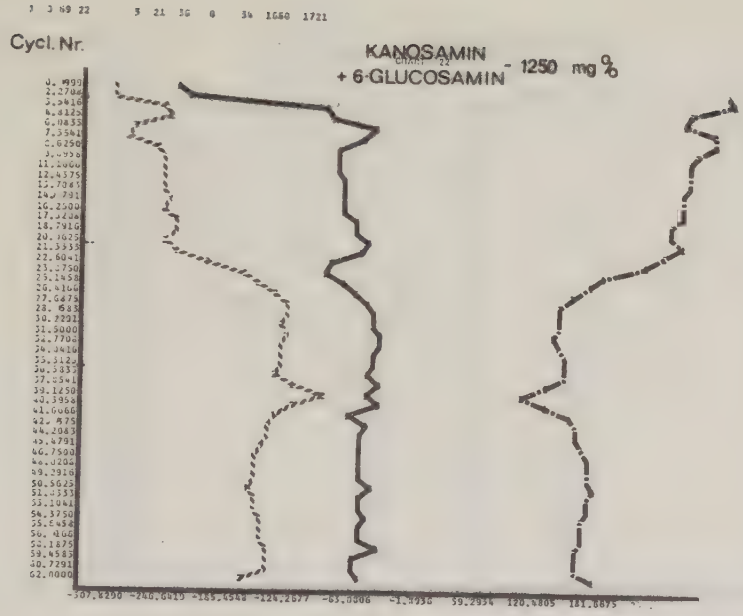


Abb. 14: 9. 9. 69

Substanz: 3-Glucosamin + 6-Glucosamin (1 : 1)

Konzentration: 1250 mg% = 57,97 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 2,0 ml/h

pH: 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl.Nr.: 3
-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 21
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl.Nr.: 36

Steiler Abfall nach Zugabe der Testsubstanz. Partielle Regeneration nach erneuter Perfusion von Ringerlösung. Starker Abfall des B-Parameters bei Perfusionsbeginn.

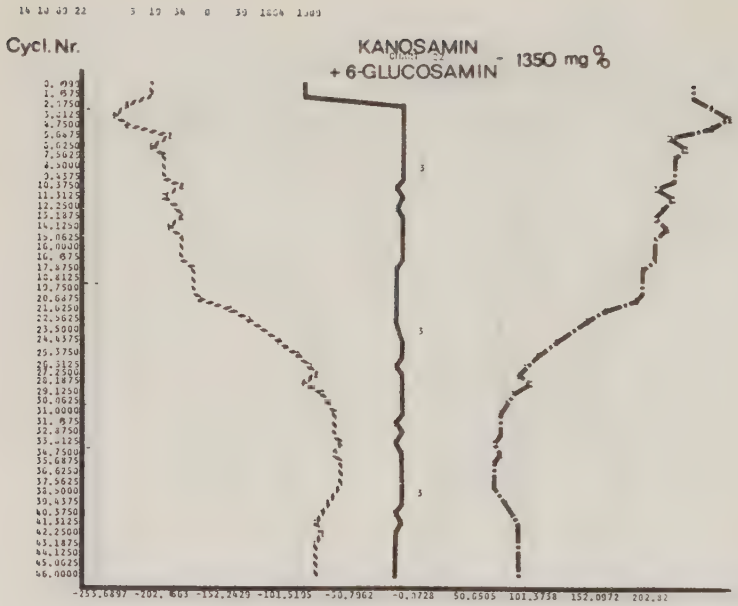


Abb. 15: 14. 10. 69

Substanz: 3-Glucosamin + 6-Glucosamin (1 : 1)

Konzentration: 1350 mg% = 62,60 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1,3 ml/h

pH: 7,4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl.Nr.: 3
-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 19
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl.Nr.: 34

Kurzfristiger Anstieg nach der ersten Perfusion von Ringerlösung. Ausgeprägter Abfall nach Zugabe der Testsubstanz, der sich nach erneuter Perfusion von Ringerlösung teilweise regeneriert.

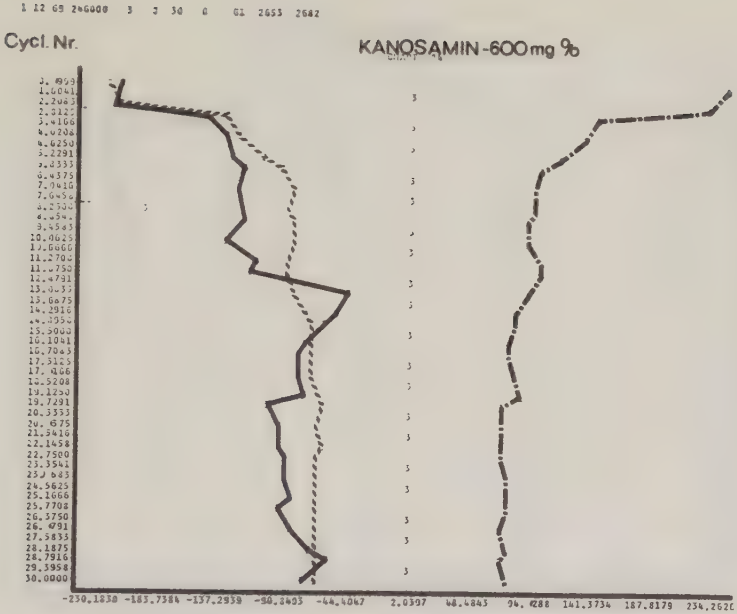


Abb. 16: 1. 12. 69

Substanz: 3-Glucosamin

Konzentration: 600 mg% = 27, 82 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1, 3 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Perfusion von Ringerlösung ab Cycl.Nr.: 3

-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 8

Deutlicher Abfall am Anfang, der durch die Manipulationen beim Anbohren verursacht wurde. Der weitere Kurvenverlauf zeigt sich nahezu unbeeinflußt durch die Substanzperfusion. Keine erneute Perfusion von Ringerlösung nach der Substanzperfusion.

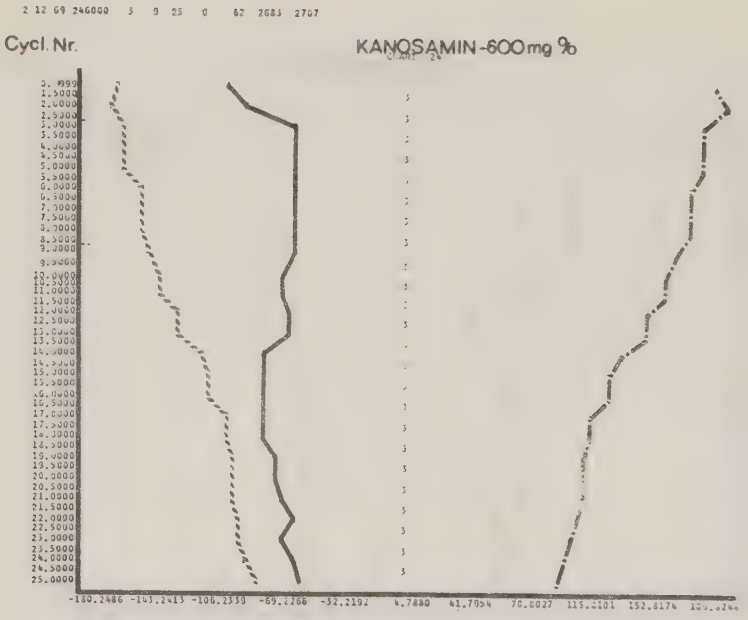


Abb. 17: 2. 12. 69

Substanz: 3-Glucosamin

Konzentration: 600 mg% = 27, 82 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 0, 8 ml/h

pH: 7, 4

\- Erste Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 3

\-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 9

Nach Zugabe der Testsubstanz setzt ein langsamer, stetiger Abfall ein. Keine erneute Perfusion von Ringerlösung nach Perfusion der Testsubstanz.

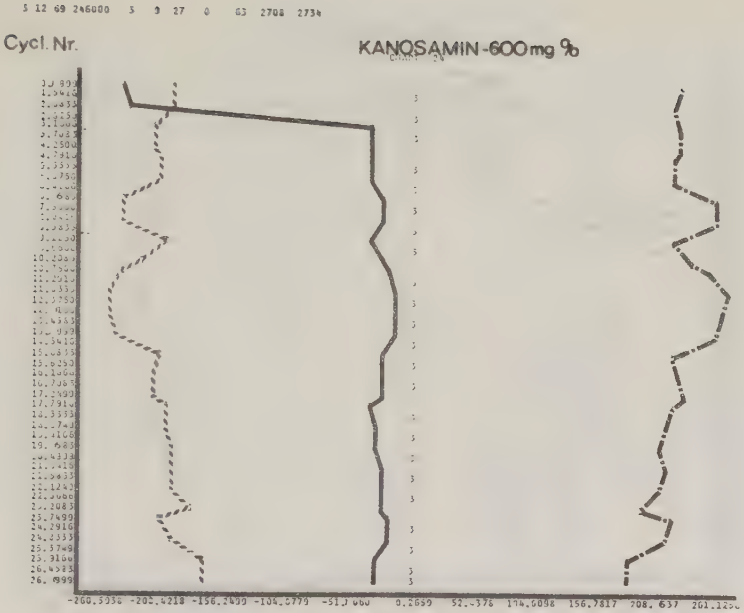


Abb. 18: 3. 12. 69

Substanz: 3-Glucosamin

Konzentration: 600 mg% = 27, 82 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1, 1 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 3

-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 9

Nach Beginn der Perfusion mit Ringerlösung tritt ein geringfügiger Anstieg ein. Auch die Perfusion der Testsubstanz führt zu keinem wesentlichen Abfall. Starker Abfall das B-Parameters bei Perfusionsbeginn. Keine erneute Perfusion von Ringerlösung.

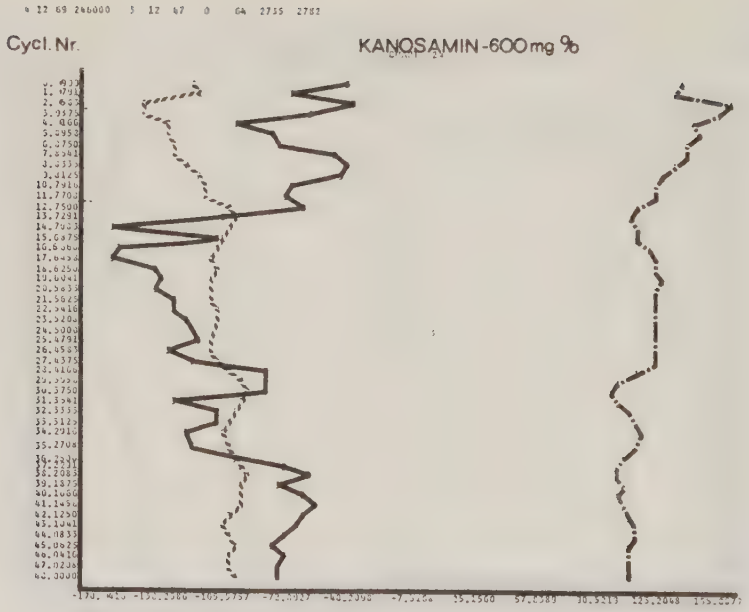


Abb. 19: 4. 12. 69

Substanz: 3-Glucosamin

Konzentration: 600 mg% = 27, 82 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 0, 9 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Perf .sion von Ringerlösung ab Cycl.Nr.: 3

-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 12

Kurvenverlauf zeigt sich durch den Einfluß der Testsubstanz nahezu unbeeinflußt. Große Unstetigkeit der Veränderungskonstanten B. Keine erneute Perfusion von Ringerlösung.

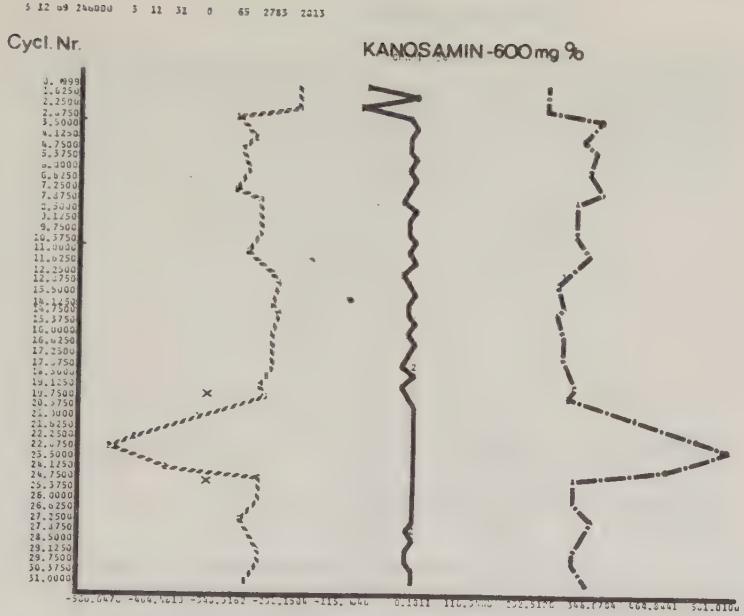


Abb. 20: 5. 12. 69

Substanz: 3-Glucosamin

Konzentration: 600 mg% = 27, 82 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 0, 9 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Perfusion von Ringerlösung bei Cycl.Nr.: 3

-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 11

Anstieg bei Beginn der Perfusion von Ringerlösung. Testsubstanz zeigt praktisch keinen Einfluß auf den Kurvenverlauf. Von X bis X zu steiler Verlauf der Aussteuerungskurve, so daß keine realen Parameter-Werte errechnet werden konnten. Keine erneute Perfusion von Ringerlösung.

Tab. 4

5 12 69 24 6000 3 11 31 0 65 2783 2813

241.5	-229.0	-0.253	12.49	5.86	8.48	0.0364	2171.	275.	204.	28	-3	1	6	1	18	0.87E 00
232.7	-221.7	-0.266	10.97	5.24	7.62	0.0352	2097.	256.	199.	28	-3	1	6	2	18	0.90E 00
346.1	-346.5	-0.046	-0.41	1.59	1.90	0.0011	1567.	319.	109.	35	-5	1	6	3	18	0.10E 01
309.1	-308.6	-0.056	0.47	1.33	1.62	0.0013	1573.	312.	113.	72	-9	1	6	4	18	0.98E 00
332.7	-333.7	-0.044	-0.98	1.94	2.31	0.0014	1469.	308.	99.	34	-5	1	6	5	18	0.10E 01
316.7	-316.4	-0.049	0.38	1.39	1.68	0.0012	1504.	301.	101.	93	-9	1	6	6	18	0.10E 01
337.3	-338.0	-0.039	-0.75	1.54	1.82	0.0010	1401.	291.	91.	21	-3	1	6	7	18	0.11E 01
291.5	-290.8	-0.059	0.74	2.30	2.82	0.0025	1504.	281.	113.	37	-5	1	6	8	18	0.10E 01
295.3	-295.5	-0.045	-0.22	1.45	1.74	0.0012	1339.	275.	89.	40	-5	1	6	9	18	0.10E 01
297.8	-298.9	-0.042	-1.18	2.11	2.51	0.0016	1284.	275.	87.	33	-5	1	6	10	18	0.10F 01
317.6	-321.3	-0.042	-3.76	12.66	15.27	0.0090	1329.	278.	78.	19	-3	1	6	11	17	0.11E 01
268.3	-268.8	-0.059	-0.49	1.51	1.85	0.0018	1374.	265.	103.	67	-8	1	6	12	18	0.10E 01
266.3	-266.9	-0.056	-0.54	1.10	1.35	0.0012	1338.	262.	98.	37	-6	1	6	13	18	0.10E 01
274.9	-275.5	-0.050	-0.64	1.78	2.15	0.0017	1293.	253.	91.	35	-5	1	6	14	18	0.10E 01
263.4	-264.3	-0.052	-0.88	2.22	2.69	0.0024	1262.	251.	89.	35	-5	1	6	15	18	0.10E 01
267.7	-268.2	-0.049	-0.52	0.99	1.19	0.0009	1248.	251.	86.	43	-5	1	6	16	18	0.10E 01
276.5	-277.8	-0.053	-1.24	1.89	2.30	0.0019	1335.	265.	98.	27	-4	1	6	17	18	0.10E 01
0.0	0.0	-0.064	0.00	0.00	0.00	0.0000	1498.	284.	120.	48	-6	1	6	18	18	0.98E 00
294.9	-295.1	-0.060	-0.27	1.83	2.25	0.0020	1536.	298.	113.	59	-7	1	6	19	18	0.98E 00
284.3	-284.4	-0.047	-0.15	4.15	5.05	0.0036	1319.	275.	90.	36	-4	1	6	20	17	0.10E 01
415.8	-415.9	-0.017	-0.07	2.22	2.47	0.0006	1013.	251.	54.	53	-7	1	6	21	17	0.16E 01
531.4	-531.2	-0.011	0.12	1.56	1.69	0.0002	949.	265.	45.	46	-6	1	6	22	17	0.19E 01
581.0	-580.6	-0.009	0.36	1.69	1.81	0.0002	922.	248.	45.	64	-8	1	6	23	17	0.23F 01
470.6	-470.4	-0.012	0.16	2.39	2.59	0.0005	886.	239.	45.	55	-8	1	6	24	17	0.19E 01
290.8	-290.3	-0.025	0.53	1.47	1.68	0.0007	965.	234.	56.	66	-8	1	6	25	18	0.12E 01
290.8	-290.3	-0.025	0.53	1.47	1.68	0.0007	965.	234.	56.	66	-8	1	6	26	18	0.12E 01
330.9	-331.3	-0.022	-0.40	1.12	1.27	0.0004	957.	231.	53.	37	-5	1	6	27	17	0.14E 01
0.0	0.0	-0.046	0.00	0.00	0.00	0.0000	1092.	236.	80.	29	-4	1	6	28	17	0.10E 01
294.9	-294.7	-0.029	0.11	0.62	0.72	0.0003	1040.	239.	63.	38	-6	1	6	29	17	0.12E 01
294.9	-294.7	-0.029	0.11	0.62	0.72	0.0003	1040.	239.	63.	38	-6	1	6	30	17	0.12E 01
317.1	-318.4	-0.027	-1.28	2.94	3.39	0.0014	1039.	239.	59.	20	-3	1	6	31	17	0.13F 01

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17

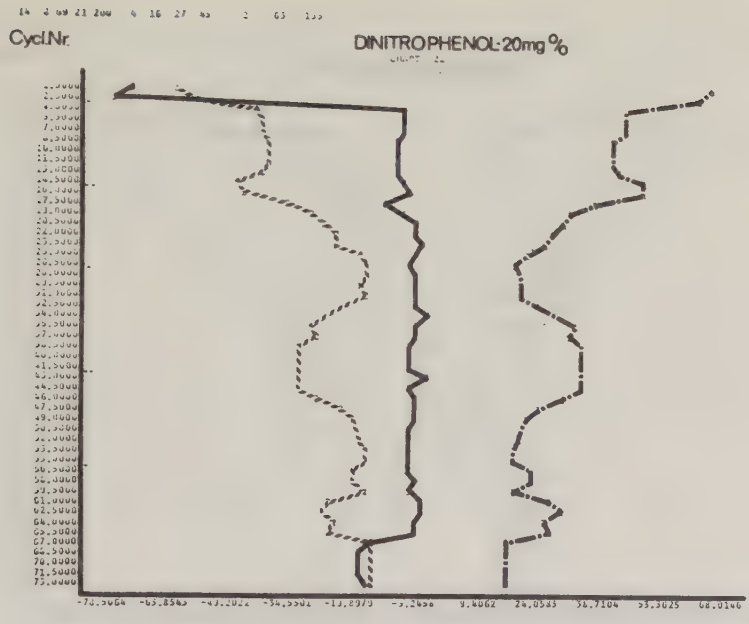


Abb. 21: 14. 8. 69

Substanz: 2, 4 - Dinitrophenol

Konzentration: 20 mg% ≈ 1, 09 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1, 1 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 4
-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 16
- Ringerlösung-Perfusion ab Cycl. Nr.: 27
-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 43
- Ringerlösung-Perfusion ab Cycl. Nr.: 56

Steiler Abfall nach der ersten Testsubstanz-Perfusion. Die Zugabe der Ringerlösung führt zu einer partiellen Regeneration, der ein zweiter Abfall nach erneuter Testsubstanz-Perfusion folgt. Aber auch hier tritt nach anschließender Perfusion von Ringerlösung wiederum eine geringgradige Erholung ein. Starker Abfall des B-Parameters bei Perfusionsbeginn.

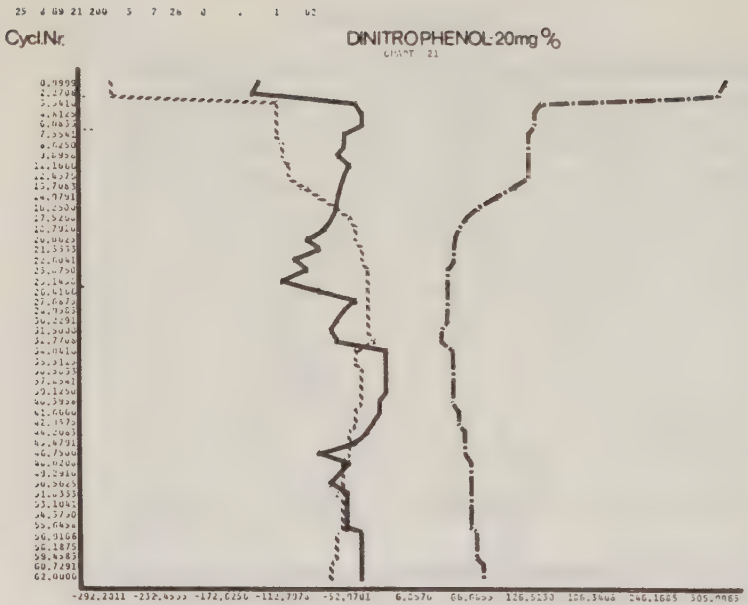


Abb. 22: 25. 8. 69

Substanz: 2, 4 - Dinitrophenol

Konzentration: 20 mg% = 1, 09 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 0, 4 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl.Nr.: 3
-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 7
- Erneute Ringerlösung-Perfusion ab Cycl.Nr.: 26

Steiler Abfall gleich nach Perfusionsbeginn, der durch Anbohrmanipulationen verursacht wurde. Dennoch läßt sich eine ausgeprägte Wirkung der Substanz und eine partielle Regeneration nach erneuter Perfusion von Ringerlösung erkennen.

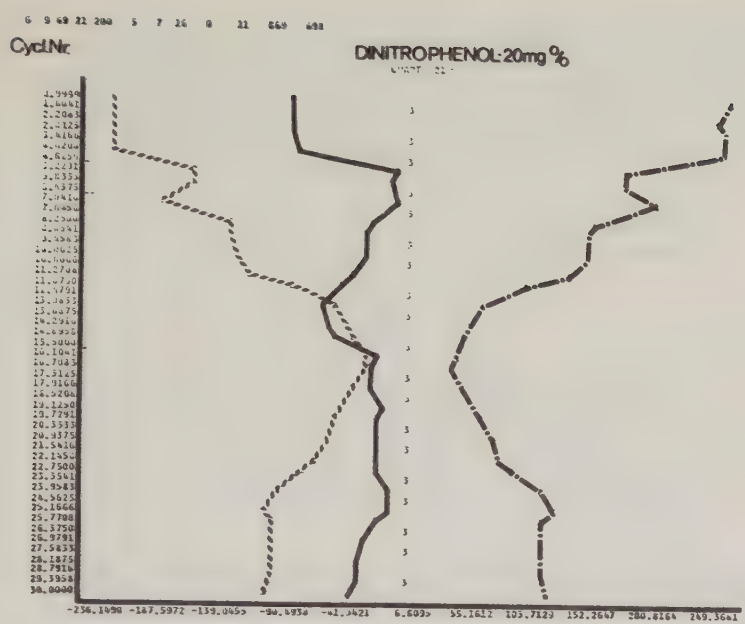


Abb. 23: 6. 9. 69

Substanz: 2, 4 - Dinitrophenol

Konzentration: 20 mg% = 1, 09 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1, 6 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 5
-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 7
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 16

Deutlicher Anstieg nach Zugabe der Testsubstanz, dann jedoch ausgeprägter Abfall. Partielle Regeneration nach erneuter Perfusion von Ringerlösung.

Tab. 5

6	9	69	21	200	5	7	16	0	11	669	693								
249.3	-236.1	-0.226	13.21	18.14	25.34	0.0975	2218.	515.	192.	24	-3	1	6	1	18	0.78E	00		
243.9	-231.6	-0.237	12.28	16.80	24.08	0.0967	2192.	512.	190.	24	-3	1	6	2	18	0.78E	00		
245.4	-232.8	-0.229	13.09	17.98	25.57	0.0989	2199.	515.	188.	24	-3	1	6	3	18	0.77E	00		
246.7	-233.2	-0.222	13.52	17.86	25.38	0.0956	2191.	512.	186.	24	-3	1	6	4	18	0.78E	00		
171.6	-172.2	-0.051	-0.63	2.32	2.78	0.0022	624.	142.	43.	33	-5	1	6	5	15	0.12E	01		
170.5	-171.4	-0.054	-0.89	2.56	3.11	0.0026	645.	141.	39.	18	-3	1	6	6	15	0.12E	01		
194.3	-193.2	-0.025	1.07	1.79	2.10	0.0012	625.	142.	40.	48	-7	1	6	7	15	0.13E	01		
143.0	-143.8	-0.070	-0.30	1.75	2.52	0.0042	782.	142.	57.	36	-5	1	6	8	15	0.10E	01		
141.4	-141.3	-0.080	0.05	1.10	1.45	0.0032	826.	142.	65.	59	-7	1	6	9	16	0.99E	00		
138.7	-138.6	-0.087	0.05	1.09	1.45	0.0036	838.	142.	70.	60	-7	1	6	10	16	0.97E	00		
127.8	-126.8	-0.111	1.02	1.35	1.85	0.0062	850.	133.	75.	37	-5	1	6	11	16	0.95E	00		
93.8	-92.1	-0.130	1.70	3.16	4.51	0.0242	669.	98.	62.	21	-3	2	6	12	17	0.95E	00		
58.0	-57.8	-0.171	0.19	0.76	1.12	0.0119	437.	59.	44.	69	-7	2	6	13	16	0.97E	00		
50.0	-49.9	-0.154	0.15	0.72	1.08	0.0114	365.	51.	36.	69	-7	2	6	14	15	0.96E	00		
45.0	-44.6	-0.151	0.36	0.29	0.44	0.0050	326.	45.	32.	43	-5	2	6	15	15	0.99E	00		
36.2	-35.6	-0.057	0.56	0.21	0.27	0.0016	187.	35.	13.	45	-6	1	6	16	14	0.10E	01		
34.0	-33.4	-0.073	0.59	0.25	0.35	0.0027	197.	35.	15.	57	-7	1	6	17	14	0.96E	00		
44.7	-44.4	-0.072	0.37	0.56	0.77	0.0044	252.	44.	20.	67	-9	1	6	18	14	0.10E	01		
54.7	-54.7	-0.054	-0.02	0.93	1.22	0.0044	267.	51.	18.	38	-5	1	6	19	14	0.10E	01		
59.2	-58.4	-0.056	0.79	1.24	1.64	0.0058	303.	56.	21.	26	-4	1	6	20	14	0.10E	01		
65.7	-65.3	-0.064	0.39	0.81	1.10	0.0038	353.	66.	26.	55	-7	1	6	21	14	0.99E	00		
72.8	-72.4	-0.067	0.46	1.32	1.80	0.0059	404.	79.	38.	16	-5	1	6	22	14	0.91E	00		
82.3	-81.6	-0.061	0.67	2.33	3.12	0.0084	435.	82.	36.	17	-5	1	6	23	14	0.10E	01		
104.1	-104.0	-0.057	0.05	0.94	1.16	0.0016	421.	91.	25.	25	-4	1	6	24	14	0.11E	01		
113.6	-113.4	-0.037	-0.31	1.02	1.28	0.0016	453.	97.	23.	16	-5	1	6	25	14	0.11E	01		
105.8	-105.4	-0.066	0.41	1.15	1.51	0.0036	577.	105.	45.	74	-8	1	6	26	15	0.10E	01		
106.4	-106.1	-0.082	0.78	1.44	1.91	0.0058	642.	110.	54.	56	-7	1	6	27	16	0.96E	00		
106.8	-107.4	-0.099	-0.55	1.09	1.47	0.0052	671.	112.	58.	28	-4	1	6	28	16	0.95E	00		
106.8	-107.4	-0.099	-0.55	1.09	1.47	0.0052	671.	112.	58.	28	-4	1	6	29	16	0.95E	00		
112.0	-112.6	-0.108	-0.62	0.75	1.06	0.0036	724.	116.	64.	73	-9	1	6	30	15	0.96E	00		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			

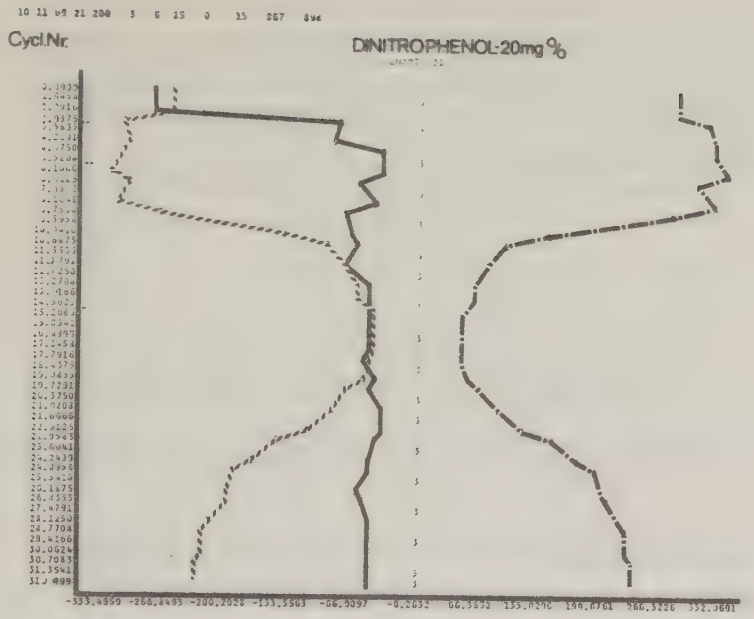


Abb. 24: 10. 11. 69

Substanz: 2, 4-Dinitrophenol

Konzentration: 20 mg% = 1, 09 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1, 8 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl.Nr.: 3
-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 6
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl.Nr.: 15

Nach Zugabe der Testsubstanz erst geringer Abfall, dann kurzfristiger Anstieg, der zu dem eigentlichen Abfall überleitet. Regeneration nach erneuter Zugabe von Ringerlösung deutlich zu erkennen. Starker Abfall des B-Parameters bei Perfusionsbeginn.

Tab. 6

10 11 69 21 200		3	6	15	0	15	867	898									
283.1	-266.0	-0.703	17.10	10.18	17.29	0.1498	3096.		301.	253.	34	-4	4	7	1	18	0.93E 00
283.1	-266.0	-0.703	17.10	10.18	17.29	0.1498	3096.		301.	253.	34	-4	4	7	2	18	0.93E 00
317.8	-313.5	-0.213	4.25	3.77	5.33	0.0144	2588.		327.	256.	49	-5	2	6	3	18	0.97E 00
321.0	-306.0 #	-0.223	14.10	9.79	13. #1	0.0399	2747.		334.	259.	27	-3	3	6	4	18	0.95E 00
319. #	-314.8	-0.095	5.14	21.89	28.16	0.0367	2045.		319.	154.	21	-3	2	7	5	18	0.10E 01
332. #	-333.4	-0.099	-0.52	7.29	9.42	0.0120	2076.		319.	188.	23	-3	2	6	6	18	0.10E 01
304.8	-307.0	-0.154	-2.24	5.08	7.08	0.0138	2200.		312.	216.	80	-7	2	6	7	17	0.97E 00
321.1	-324.3	-0.108	-3.2.	4.51	6.01	0.0081	2041.		312.	192.	23	-3	3	6	8	17	0.10E 01
273.5	-279.3	-0.192	-6.42	3.39	4.87	0.0126	2057.		272.	218.	28	-3	3	6	9	17	0.10E 01
145.6	-144.8	-0.171	0.77	1.13	1.62	0.0078	1099.		144.	110.	50	-6	3	6	10	18	0.10E 01
93.4	-95.8	-0.163	-2.37	2.17	3.14	0.0194	665.		91.	69.	24	-3	4	6	11	16	0.10E 01
73.2	-73.7	-0.184	-0.58	1.04	1.54	0.0137	551.		72.	55.	44	-5	4	6	12	16	0.10E 01
62.9	-63.9	-0.123	-1.00	1.08	1.56	0.0106	412.		61.	40.	23	-3	2	6	13	15	0.10E 01
59. #	-62.1	-0.132	-2.15	1.68	2.56	0.0176	391.		58.	39.	23	-3	4	6	14	14	0.10E 01
50.8	-52.0	-0.132	-1.17	0.94	1.42	0.0117	339.		49.	33.	41	-5	3	6	15	14	0.10E 01
47.7	-48.7	-0.122	-1.00	0.72	1.08	0.0089	312.		47.	30.	23	-3	2	6	16	14	0.10E 01
47.1	-48.2	-0.118	-1.14	0. #6	1.43	0.0115	302.		45.	29.	22	-3	3	6	17	14	0.10E 01
46.8	-47.1	-0.136	-0.23	0.45	0.69	0.0064	324.		47.	31.	65	-7	2	6	18	14	0.97E 00
58.2	-58. #	-0.108	-0.63	0.53	0.78	0.0048	370.		57.	34.	22	-3	2	6	19	14	0.10E 01
72.5	-74.3	-0.121	-1.33	1.46	2.18	0.0116	469.		70.	46.	33	-5	2	6	20	14	0.10E 01
88.7	-87.4	-0.100	1.23	1.24	1.72	0.0071	568.		88.	50.	45	-7	2	6	21	15	0.10E 01
116.2	-116.9	-0.090	-0.70	1.04	1.39	0.0042	698.		113.	61.	35	-5	2	6	22	16	0.10E 01
147.1	-149. #	-0.111	-2.78	2.34	3.32	0.0087	933.		144.	89.	23	-3	2	6	23	15	0.10E 01
174.0	-173.7	-0.128	0.26	1.43	1. #0	0.0059	1198.		173.	112.	71	-7	3	6	24	18	0.10E 01
194.8	-195.7	-0.128	-0. #8	2.11	2.81	0.0077	1325.		192.	130.	35	-5	3	6	25	18	0.10E 01
201.8	-203.1	-0.152	-1.29	1.71	2.32	0.0071	1445.		199.	144.	26	-3	3	6	26	18	0.10E 01
206.4	-206.6	-0.149	-0.13	1.39	1.38	0.0056	1488.		208.	146.	75	-8	2	6	27	18	0.98E 00
223.5	-222.5	-0.120	1.01	1.09	1.44	0.0032	1514.		223.	141.	105	-10	2	6	28	18	0.99E 00
230.3	-231.2	-0.121	-0.86	2.61	3.45	0.0076	1538.		226.	146.	55	-7	2	6	29	18	0.10E 01
229.0	-231.4	-0.131	-2.45	3.04	4.28	0.0090	1555.		226.	156.	34	-5	3	6	30	16	0.10E 01
239.0	-238.4	-0.126	0.61	2.70	3.58	0.0080	1642.		239.	149.	69	-8	2	6	31	18	0.99E 00
252.4	-255.5	-0.146	-3.14	3.49	4.71	0.0112	1772.		251.	173.	36	-5	2	6	32	18	0.10E 01
1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17

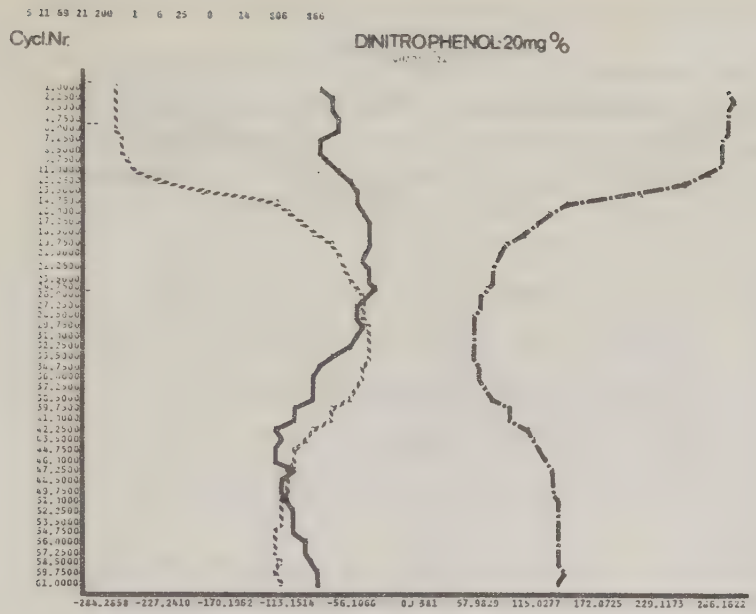


Abb. 25: 5. 11. 69

Substanz: 2, 4 - Dinitrophenol

Konzentration: 20 mg% = 1, 09 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 0, 9 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl.Nr.: 1

-- Testsubstanz ab Cycl.Nr.: 6

- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl.Nr.: 25

Ausgeprägter Abfall nach Perfusion der Testsubstanz und schöne, partielle Regeneration nach erneuter Perfusion von Ringerlösung. Keine Parameter-Darstellung bei unangebohrter Cochlea.

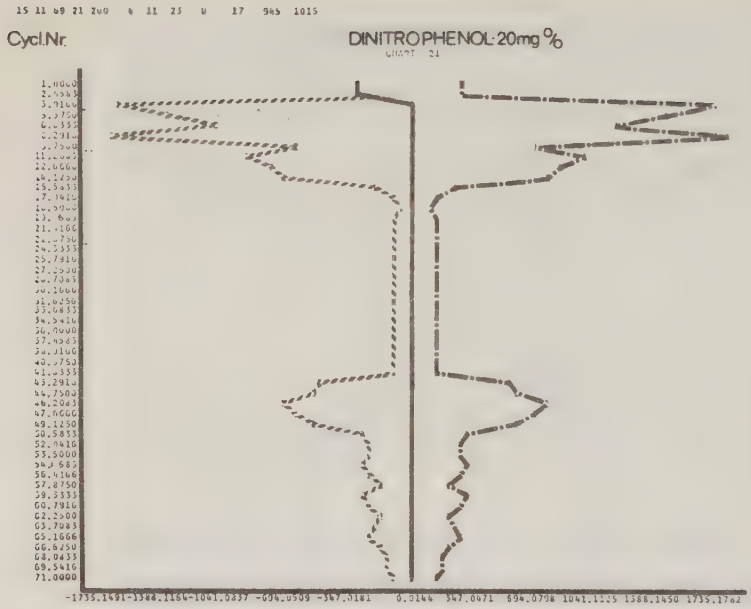


Abb. 26: 15. 11. 69

Substanz: 2, 4 - Dinitrophenol

Konzentration: 20 mg% = 1, 09 mMol/l

Perfusionsgeschwindigkeit: 1, 5 ml/h

pH: 7, 4

- Erste Ringerlösung-Perfusion bei Cycl. Nr.: 4
-- Testsubstanz ab Cycl. Nr.: 11
- Erneute Perfusion von Ringerlösung ab Cycl. Nr.: 23

Starke Schädigung des Innenohres durch die Manipulationen des Anbohrens. Es wurden zu wenig Daten auf den Datenträgern übermittelt, so daß der Computer keine adäquate Berechnung der Parameter durchführen konnte.

E) Beeinflussung der Parameter durch die Methode

Wichtig ist zu wissen, wie weit sich die Mikrophonpotentiale durch die Manipulationen des Anbohrens und durch den Austausch der Perilymphe mit Ringerlösung verändern. Hierzu wurden jeweils zwei (A_1, A_2,B) - Parameter vor und nach dem Anbohren gemittelt. Als Ergebnis findet sich:

	N_{vor}	$\bar{x}_{vor}$	S_{vor}	N_{nach}	$\bar{x}_{nach}$	S_{nach}
A_1	123	209,7	221,2	129	225,3	369,4
A_2	123	-200,3	-210,9	129	-225,3	374,2
B	124	-0,546	0,640	130	-0,201	0,327

(N = Anzahl, $\bar{x}$ = Mittelwert, S = Standardabweichung)

Diese Zusammenfassung zeigt, daß die Mittelwerte der Parameter A_1 und A_2 nach dem Anbohren und Perfundieren etwas größer sind als bei intakter Cochlea. Hierbei handelt es sich jedoch um den Mittelwert sämtlicher Ergebnisse. Eliminiert man Ausreißer über 2,5 s wie in den folgenden Abbildungen (Abb. 27 - 32) so zeigt sich, daß auch A_1 und A_2 nach dem Anbohren/Perfundieren etwas abfällt (s. S.66) allerdings nicht so sehr wie die Mittelwerte der B-Parameter, die eindeutig tiefer liegen.

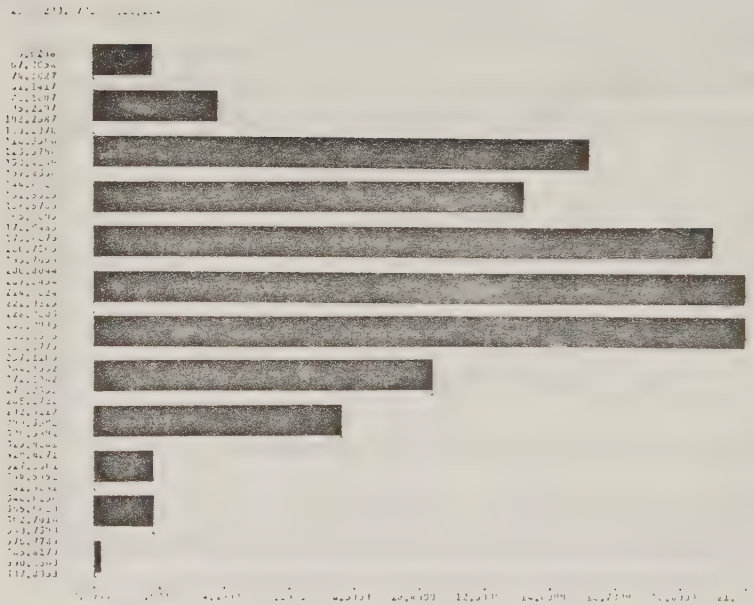


Abb. 27: Verteilungskurve von A_1 bei intakter Cochlea

N = 123

$\bar{x}$ = 209,68

s = 221,18

Ordinate = A_1 (μV)

Abszisse = Häufigkeit von A_1 im angegebenen Intervall

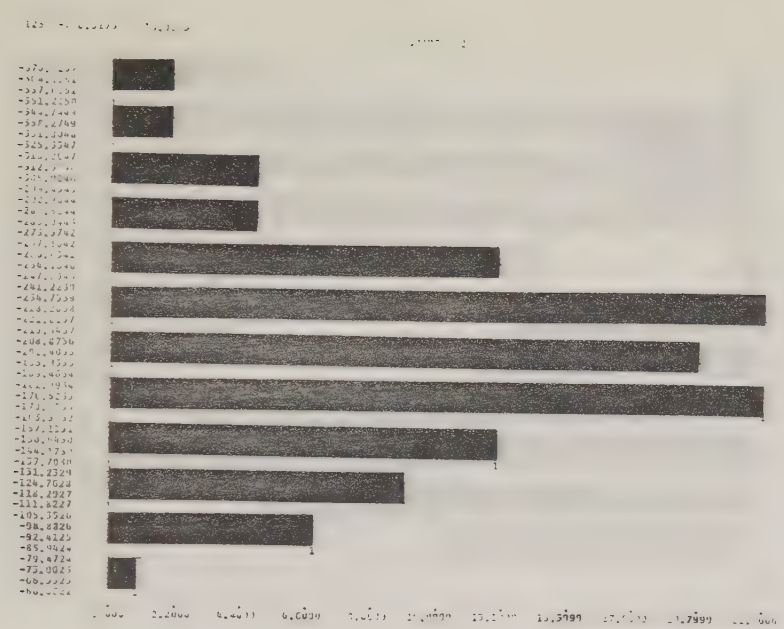


Abb. 28: Verteilungskurve von A_2 bei intakter Cochlea

N = 123

$\bar{x}$ = -200,32

s = 210,93

Ordinate = A_2 (/µV)

Abszisse = Häufigkeit von A_2 im angegebenen Intervall

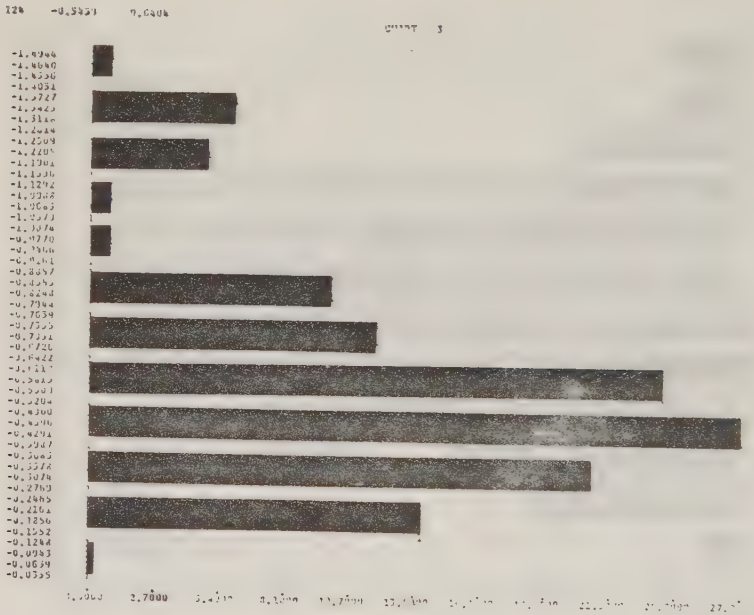


Abb. 29: Verteilungskurve von B bei intakter Cochlea

N = 124

$\bar{x}$ = -0,5459

s = 0,6404

Ordinate = B (μV)

Abszisse = Häufigkeit von B im angegebenen Intervall

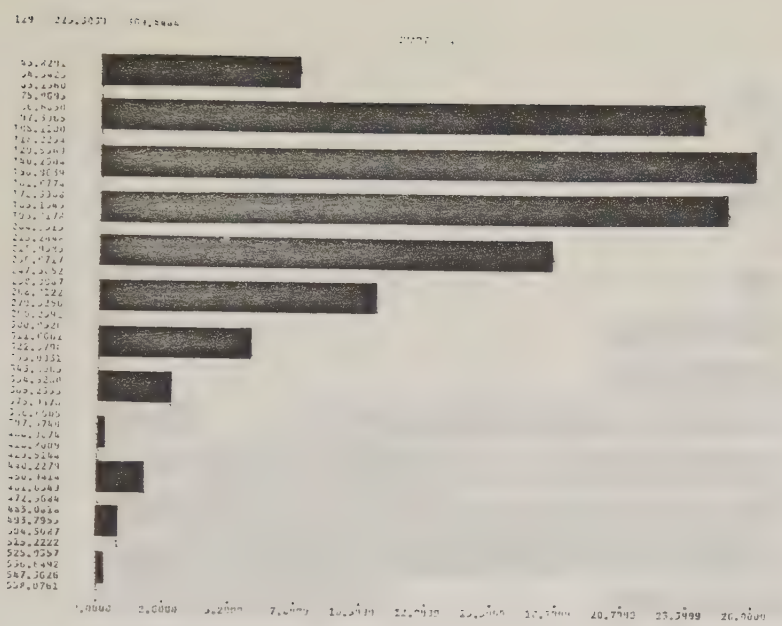


Abb. 30: Verteilungskurve von A_1 nach Perfusion mit Ringerlösung.

N = 129

$\bar{x}$ = 223,30

s = 369,45

Ordinate: A_1 (μV)

Abszisse = Häufigkeit von A_1 im angegebenen Intervall

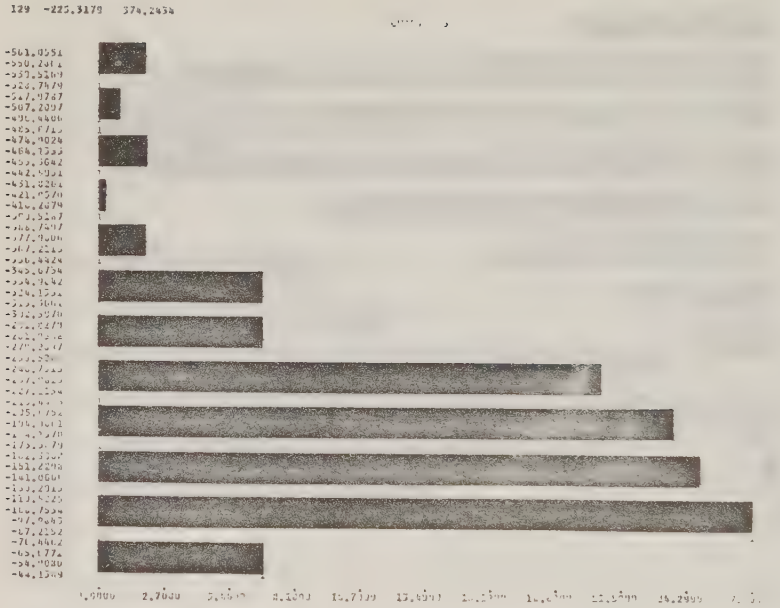


Abb. 31: Verteilungskurve von A_2 nach Perfusion mit Ringerlösung

N = 129

$\bar{x}$ = -225,32

s = 374,25

Ordinate = A_2 (μV)

Abszisse = Häufigkeit von A_2 im angegebenen Intervall

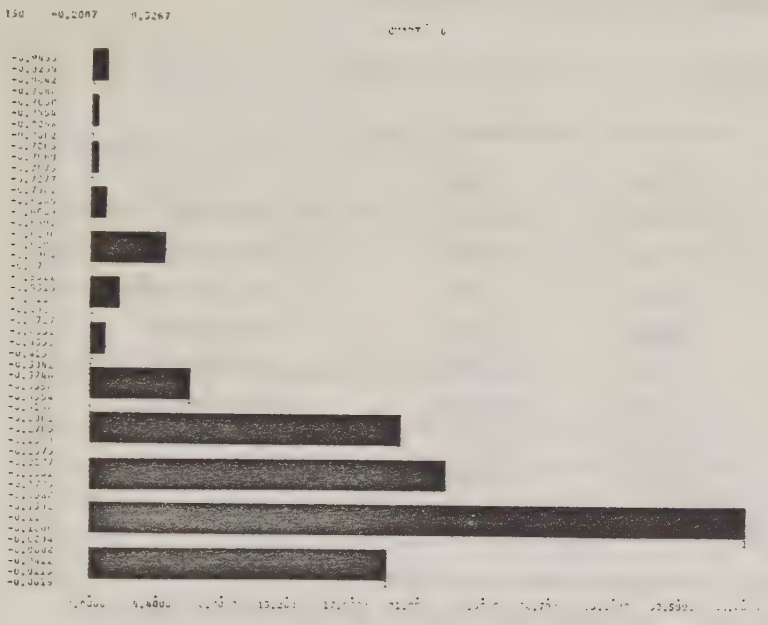


Abb. 32: Verteilungskurve von B nach Perfusion mit Ringerlösung

N = 130

$\bar{x}$ = -0,2007

s = 0,3267

Ordinate = B (μV)

Abszisse = Häufigkeit von B im angegebenen Intervall

F) Allgemeine Versuchsübersicht

1. Parameter A_1, A_2 und B nicht errechnet:

Anzahl	Mittelwert	Standardabweichung	
18	1.4203	1.5306	$Q_1 = A_1/U_{max}$
18	0,3722	0,4037	Q_2 = DP/MP
1	0.0000	0.0000	A_1 unangebohrt
1	0.0000	0.0000	A_2 unangebohrt
1	-0.0334	0.0000	B unangebohrt
1	0.0000	0.0000	A_1 angebohrt
1	0.0000	0.0000	A_2 angebohrt
1	-0.0505	0.0000	B angebohrt
18	5.0000	5.4485	Durchstoßpunkte
18	13.6666	14.2738	Meßpunkte

Bei diesen Werten wurde der in dem iterativen Verfahren erhaltene Endwert von A_1 zur Berechnung von Q herangezogen. In 18 Fällen war die MP/P-Beziehung linear oder positiv gekrümmt, so daß keine Lösung gefunden wurde.

2. Parameter A_1, A_2 und B errechnet:

Anzahl	Mittelwert	Standardabweichung	
2237	1.3940	2,0825	Q_1
2237	0.2965	0.3195	Q_2
104	207.3911	219,2200	A_1 unangebohrt
104	-198.0386	208.9734	A_2 angebohrt
104	-0.5550	0.6518	B unangebohrt
110	198.9969	267.4133	A_1 angebohrt
110	-198.3925	266.7929	A_2 angebohrt
110	-0.2086	0.3445	B angebohrt
2237	4.3991	4.6725	Durchstoßpunkte
2237	15.1917	15.3347	Meßpunkte

3. Bestimmung der Korrelationskoeffizienten:

A_1 gegen U_{max} = 0.7563
A_1 gegen Summe von U = 0.6713

4. Anzahl der duplizierten Karten: 558

In einigen Fällen gab es experimentell bedingte Verzögerungen. Um einen adaequaten Zeitausgleich zu haben, wurde die vorhergehende Karte dupliziert.

G) Zusammenfassung der Ergebnisse

Der Verlauf der Parameter ist nach Einwirkung der Testsubstanz außerordentlich charakteristisch. Es wurde nun eine Kurve gesucht, die die Zeitabhängigkeit der Parameter A_1, A_2 und B annähernd richtig wiedergibt. Die empirische Approximationsfunktion, die in etwa diese Voraussetzungen erfüllt, lautet:

$$y = e^{at^3 + bt^2 + ct + d}$$

Aus der Zeitabhängigkeit der Parameter A_1, A_2 und B wurden die Konstanten a, b, c und d ermittelt. Aus dieser Funktion konnten dann verschiedene Parameter (x_{max}, y_{min} ...) berechnet werden, die in nachfolgender Abbildung graphisch erläutert sind.

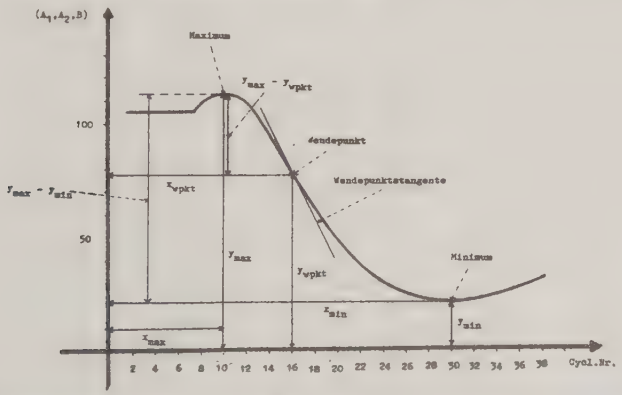


Abb. 33: Graphische Darstellung der empirischen Approximationsfunktion und deren wichtigste Parameter

In den folgenden Tabellen wurden nachstehende Daten aufgezeichnet:

1, 2, 3 = Datum

4 = Code (Substanz)

5 = Konzentration in 1/10 mg%

6 = Erste Cyclusnr. nach Perfusion von Ringerlösung

7 = Erste Cycl.Nr. nach Testsubstanzperfusion

8 = Erste Cycl.Nr. nach erneuter Ringerlösung-Perfusion

9 = Versuchsnummer

10 = y bei Beginn der Substanzperfusion

11 = Zeit bis zum Maximum (x_{max})

12 = Höhe des Maximums (y_{max})

13 = Zeit bis zum Minimum (x_{min})

14 = Höhe des Minimums (y_{min})

15 = Zeit bis zum Wendepunkt (x_{wpkt})

16 = Höhe des Wendepunktes (y_{wpkt})

17 = Steigung im Wendepunkt (Wendepunktstangente)

18 = Summe der quadratischen Abweichung zwischen den angenommenen und errechneten Kurvenpunkten

19 = Verhältnis der Durchstoßpunkte zu den Meßpunkten

Tab. 7a

Substanz: Kanamycin

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	11	69	23	1000	3	11	32	41	0.305	-17.995	0.204
5	11	69	23	1000	3	6	24	42	370.958	-15.668	249.070
5	11	69	23	1000	3	6	24	42	368.002	-16.902	245.285
5	11	69	23	1000	3	6	24	42	0.319	-21.188	0.345
13	11	69	23	1000	3	8	28	44	210.961	11.240	241.529
13	11	69	23	1000	3	8	28	44	208.035	9.679	251.899
28	9	69	23	5000	4	13	28	45	84.852	-3.308	87.127
28	9	69	23	5000	4	13	28	45	85.245	-3.480	87.189
28	9	69	23	5000	4	13	28	45	0.040	-4.595	0.061
27	10	69	23	5000	3	8	34	46	261.744	-4.575	265.078
27	10	69	23	5000	3	8	34	46	258.826	-4.779	265.107
27	10	69	23	5000	3	8	34	46	0.265	-117.015	4.545
28	10	69	23	5000	3	10	25	47	0.065	6.080	0.242
1	11	69	23	5000	3	9	24	48	72.105	40.995	3075.979
1	11	69	23	5000	3	9	24	48	71.040	31.217	925.928
1	11	69	23	5000	3	9	24	48	0.116	-11.178	0.059
28	11	69	23	5000	3	9	27	49	97.133	-5.244	104.072
28	11	69	23	5000	3	9	27	49	96.549	-5.257	103.267
28	11	69	23	5000	3	9	27	49	0.125	-5.400	0.165
14	8	69	23	8000	3	8	24	50	103.721	-4.686	135.837
14	8	69	23	8000	3	8	24	50	102.403	-4.794	135.759
14	8	69	23	8000	3	8	24	50	0.108	-14.667	0.099
18	9	69	23	8000	5	12	19	51	1449.573	-1.776	1557.771
18	9	69	23	8000	5	12	19	51	1450.620	-1.779	1560.768
18	9	69	23	8000	5	12	19	51	0.001	-5.966	0.008
10	10	69	23	8000	3	9	28	52	95.362	-4.539	97.117
10	10	69	23	8000	3	9	28	52	91.889	-4.566	94.600
10	10	69	23	8000	3	9	28	52	0.247	-3.588	[illegible]
10	11	69	23	8000	3	8	25	53	259.113	-10.245	[illegible]
10	11	69	23	8000	3	8	25	53	261.159	-10.238.	1037.555
10	11	69	23	8000	3	8	25	53	0.087	34.598********	
10	11	69	23	8000	3	8	22	54	83.654	-3.591	86.476
10	11	69	23	8000	3	8	22	54	83.821	-3.565	86.146
10	11	69	23	8000	3	8	22	54	0.237	-4.780	0.577
10	11	69	23	8000	3	8	22	55	187.802	2.860	254.937
10	11	69	23	8000	3	8	22	55	186.194	2.885	255.551
10	11	69	23	8000	3	8	22	55	0.172	-2.602	0.183
10	12	69	23	8000	3	8	18	56	186.817	-8.787	435.286
10	12	69	23	8000	3	8	18	56	185.208	-8.787	433.085
10	12	69	23	8000	3	8	18	56	0.060	-1.906	0.088
18	10	69	2312000		3	10	17	57	190.769	-10.795	85.907
18	10	69	2312000		3	10	17	57	191.579	-10.946	88.235
18	10	69	2312000		3	10	17	57	0.091	-14.138	0.019
20	10	69	2312000		3	8	26	58	80.615	-1.520	78.897
20	10	69	2312000		3	8	26	58	78.591	-1.674	76.786
20	10	69	2312000		3	8	26	58	0.269	-2.655	0.200
20	10	69	2312000		3	11	28	59	127.413	-13.973	124.267
20	10	69	2312000		3	11	28	59	130.954	-14.066	120.067
20	10	69	2312000		3	11	28	59	0.873	1.027	1.070
20	10	69	2312000		3	9	24	60	68.717	-13.981	49.070
20	10	69	2312000		3	9	24	60	70.075	-15.664	46.695
20	10	69	2312000		3	9	24	60	0.087	-4.455	0.113

Tab. 7b

Substanz: Kanamycin

13	14	15	16	17	[illegible]	[illegible]
9.082	0.178	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	129.361	-17.929	[illegible]	[illegible]
11.716	259.457	[illegible]	128.813	-17.925	[illegible]	[illegible]
7.655	0.196	[illegible]	0.190	-0.036	0.070	0.578
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-4.107	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-3.958	[illegible]	[illegible]
16.990	25.259	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	63.771	-8.206	[illegible]	[illegible]
12.847	[illegible]	[illegible]	0.048	-0.006	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-0.407	10.447	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	220.538	-0.215	10.381	[illegible]
13.231	[illegible]	[illegible]	2.491	-0.131	[illegible]	0.555
9.062	0.032	[illegible]	0.169	-0.025	[illegible]	[illegible]
14.544	46.772	[illegible]	[illegible]	[illegible]	9.191	0.575
14.745	46.515	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.575
5.415	0.029	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	70.692	[illegible]	[illegible]	[illegible]
38.250	5.209	[illegible]	70.051	[illegible]	9.077	[illegible]
[illegible]	0.091	[illegible]	0.134	[illegible]	[illegible]	[illegible]
10.669	55.883	[illegible]	99.424	-14.454	[illegible]	[illegible]
10.609	55.191	[illegible]	99.204	-14.620	55.745	[illegible]
[illegible]	0.019	[illegible]	0.056	-0.028	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-0.004	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	12.571	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	4.709	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	****************		0.024	0.277
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	5.577	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	55.576	-8.574	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.071	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	12.134	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.129	[illegible]	0.020	0.555
[illegible]	147.557	[illegible]	[illegible]	[illegible]	113.728	0.565
2.276	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	113.457	0.565
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.018	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-19.111	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	10.301	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-0.178	0.028	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-2.925	1.513	[illegible]
[illegible]	45.514	[illegible]	[illegible]	-2.977	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-0.006	0.015	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	-10.155	22.593	0.277
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	22.774	0.277
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.175	0.222
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	2.512	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.012	[illegible]

Tab. 8a

Substanz: [illegible]anosamin + [illegible] - Glucosamin

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
7	8	69	22	3500	6	19	46	21	0.102	-7.411	0.114
10	8	69	22	3500	3	35	52	22	0.102	4.979	0.226
15	10	69	22	3500	3	11	25	23	124.052	-0.741	127.430
15	10	69	22	3500	3	11	25	23	124.305	-0.545	128.020
15	10	69	22	3500	3	11	25	23	0.111	-2.822	0.124
15	10	69	22	3500	3	8	21	24	0.034	-16.831	0.039
25	10	69	22	3500	3	15	45	25	100.516	-0.510	162.860
25	10	69	22	3500	3	15	45	25	98.135	-7.074	167.104
25	10	69	22	3500	3	15	45	25	35.761	-28.405	0.229
20	12	69	22	3700	3	6	57	26	101.457	-12.221	148.268
20	12	69	22	3700	3	6	57	26	101.780	-35.558	0.374
10	8	69	22	7000	4	9	47	27	30.942	-7.965	135.670
10	8	69	22	7000	4	9	47	27	54.676	-12.489	90.401
31	8	69	22	7000	3	11	28	29	0.177	-18.959	[illegible]
15	9	69	22	7000	4	10	21	30	[illegible]	-3.844	[illegible]
1	9	69	22	7200	3	11	25	31	0.132	-11.574	[illegible]
3	9	69	22	7200	4	12	22	32	141.867	-5.961	[illegible]
3	9	69	22	7200	4	12	22	32	140.462	-5.366	[illegible]
3	9	69	22	7200	4	12	22	32	[illegible]	-12.715	0.004
[illegible]	9	69	22	7200	3	9	20	33	[illegible]	6.350	[illegible]
6	9	69	22	7200	3	9	20	33	216.254	7.059	377.521
[illegible]	9	69	22	7200	3	9	20	33	0.450	2.936	0.765
[illegible]	9	69	22	12500	3	21	36	34	242.717	-10.952	150.955
9	9	69	22	12500	3	21	36	34	240.313	-15.357	150.116
9	9	69	22	12500	3	21	36	34	0.154	-3.690	0.211
11	9	69	22	13500	4	8	34	35	166.725	-4.209	[illegible]
11	9	69	22	13500	4	8	34	35	164.964	-4.176	163.661
11	9	69	22	13500	4	8	34	35	0.250	-3.475	0.241
10	10	69	22	13500	5	10	17	36	207.727	-0.255	215.572
10	10	69	22	13500	5	10	17	36	209.119	-0.199	217.353
10	10	69	22	13500	5	10	17	36	0.165	-7.710	0.051
13	10	69	22	13500	3	15	24	37	157.364	-9.705	330.751
13	10	69	22	13500	3	15	24	37	157.072	-9.707	330.521
13	10	69	22	13500	3	15	24	37	0.145	-1.412	0.174
14	10	69	22	13500	4	7	17	38	233.589	-10.013	475.040
14	10	69	22	13500	4	7	17	38	233.475	-10.023	474.660
14	10	69	22	13500	4	7	17	38	0.184	-3.123	0.205
14	10	69	22	13500	3	19	34	39	165.014	7.836	349.992
14	10	69	22	13500	3	19	34	39	165.022	8.338	360.508
14	10	69	22	13500	3	19	34	39	0.040	0.260	0.042
17	10	69	22	13500	3	15	33	40	0.564	-22.632	0.000

Tab. 8b

Substanz: Kanosamin + 6 - Glucosamin

13	14	15	16	17	18	19
21.331	0.995	13.778	0.105	-0.002	0.015	0.321
27.700	0.990	0.277	[illegible].175	-0.006	0.017	0.300
13.205	55.495	5.322	50.414	-9.147	4.680	0.400
13.292	56.140	5.217	[illegible]	-8.971	4.775	0.260
9.702	0.991	3.072	[illegible]	-0.007	0.017	0.260
6.134	0.105	13.920	[illegible]	-0.006	0.004	0.557
31.105	95.991	12.470	147.919	-4.400	2.068	0.558
27.012	96.116	13.451	137.140	-5.276	12.502	0.135
13.722	0.992	34.428	0.127	-0.027	27.029	0.120
41.702	89.293	24.334	123.[illegible]	-3.075	0.400	0.250
13.085	0.159	43.905	0.015	-0.019	38.112	0.155
33.413	51.792	13.517	63.824	-3.770	19.841	0.155
30.928	51.651	19.925	74.103	-3.254	27.525	0.200
7.331	0.110	26.019	0.037	-0.015	0.010	0.500
3.333	0.020	6.173	0.024	-0.001	0.006	0.555
5.157	0.020	17.164	0.035	-0.015	0.016	0.200
11.003	231.[illegible]	16.387	265.002	-26.256	33.202	0.365
11.333	231.667	6.300	265.354	-26.514	33.358	0.365
6.006	0.002	13.273	0.002	-0.001	0.019	0.365
3.976	167.440	-1.300	266.449	-24.955	4.155	0.555
16.105	110.071	-1.312	276.734	-26.255	5.265	0.555
3.636	0.177	3.352	0.311	-0.071	0.354	0.555
31.026	134.157	27.706	71.339	-11.143	6.074	0.575
31.006	134.[illegible]	24.356	73.366	-12.200	6.952	0.575
31.310	0.171	7.331	0.167	-0.010	0.021	0.250
33.131	32.771	11.666	131.225	-11.047	29.076	0.148
32.206	26.977	11.371	120.500	-10.215	28.044	0.140
13.125	0.957	7.793	0.170	-0.024	0.047	0.185
6.810	63.309	2.375	196.299	-30.109	3.508	0.625
6.807	62.910	2.325	196.666	-30.700	3.698	0.625
3.755	0.015	3.431	0.023	-0.021	0.009	0.500
3.377	130.730	12.341	135.578	-100.783	42.435	0.600
3.361	106.406	12.343	135.355	-100.725	42.534	0.600
0.057	0.001	2.841	0.005	-0.051	0.011	0.700
2.653	208.995	13.087	264.627	-111.946	141.959	0.545
2.665	207.519	13.079	266.466	-112.455	142.151	0.545
14.768	0.000	1.023	0.100	-0.092	0.056	0.365
15.120	60.310	-1.138	240.900	-22.331	8.959	0.250
15.172	60.290	-1.613	266.989	-23.250	8.963	0.255
11.152	0.354	5.004	0.100	-0.001	0.003	0.500
15.930	0.064	32. 06	0.[illegible]	-0.006	0.078	0.210

Tab. 9

[illegible]: Kanosamin

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	12	69	24	6000	3	6	30	61	92.824	3.304	99.673
1	12	69	24	6000	3	6	30	61	92.441	6.786	104.369
1	12	69	24	6000	3	6	30	61	0.500	-17.456	0.247
2	12	69	24	6000	3	9	25	62	160.921	-73.531	153.872
2	12	69	24	6000	3	9	25	62	154.609	35.3563	8931.855
2	12	69	24	6000	3	9	25	62	0.472	-8.568	0.206
3	12	69	24	6000	3	9	27	63	215.561	-4.519	243.444
3	12	69	24	6000	3	9	27	63	215.429	-4.458	242.912
3	12	69	24	6000	3	9	27	63	0.099	-14.125	0.080
4	12	69	24	6000	3	12	47	64	110.725	-8.507	116.261
4	12	69	24	6000	3	12	47	64	108.692	-9.468	114.369
5	12	69	24	6000	3	11	51	65	0.042	-5.507	0.057

13	14	15	16	17	18	19
17.706	89.[illegible]	5.55[illegible]	86.397	-2.077	3.835	0.260
17.8[illegible]	88.894	[illegible].791	88.805	-2.195	3.854	0.260
8.492	0.164	25.597	0.134	-0.030	0.038	0.454
27.993	97.083	99.305	73.483	-3.807	3.271	0.352
35.689	92.167	-66.5062	4680.945	-1111.049	3.001	0.352
79.244	0.998	20.113	0.120	-0.011	0.009	0.294
16.599	196.631	16.[illegible]	221.572	-5.359	12.673	0.315
16.446	194.436	9.[illegible]	220.349	-6.068	12.529	0.315
5.253	0.058	19.979	0.043	-0.010	0.013	0.210
26.[illegible]	101.167	17.647	109.650	-1.151	5.319	0.250
26.565	101.522	16.467	108.159	-1.019	4.526	0.194
15.695	6.018	7.623	0.043	-0.005	0.012	0.285

Tab. 10a

Substanz: 2,4 - [illegible]

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
25	6	69	21	200	5	7	26	1	120.[illegible]	-2.[illegible]	1[illegible].77
25	8	69	21	200	5	7	26	1	12[illegible].[illegible]	-2.35[illegible]	1[illegible].[illegible]
25	8	69	21	200	5	7	26	1	0.257	-12[illegible].[illegible]3[illegible].[illegible]
14	6	69	21	200	4	7	27	2	0.013	-2.[illegible]	[illegible].[illegible]
30	8	69	21	200	5	8	40	3	130.[illegible]	-2[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
30	8	69	21	200	5	8	40	3	[illegible].[illegible]	-2[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
31	8	69	21	200	4	8	41	3	87.744	-2.71[illegible]	[illegible].[illegible]
31	8	69	21	200	4	7	14	3	[illegible].[illegible]	-2.[illegible]	[illegible].[illegible]
31	8	69	21	200	4	7	17	3	0.031	-0.[illegible]	[illegible].[illegible]
5	9	69	21	200	5	7	23	3	143.[illegible]	-2.[illegible]	[illegible].[illegible]
5	9	69	21	200	5	7	23	3	[illegible].[illegible]	-2.[illegible]	[illegible].[illegible]
5	9	69	21	200	5	7	23	3	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
4	9	69	21	200	4	[illegible]	[illegible]	3	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
5	9	69	21	200	5	8	24	3	87.967	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
5	9	69	21	200	5	8	24	3	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
5	9	69	21	200	5	8	25	3	0.[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
6	9	69	21	200	5	7	10	11	104.[illegible]	-[illegible].[illegible]	1[illegible].[illegible]
6	9	69	21	200	5	7	10	11	105.[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
6	9	69	21	200	5	7	16	11	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
9	9	69	21	200	5	8	15	11	350.174	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
9	9	69	21	200	5	8	15	11	[illegible].[illegible]	-2.[illegible]	[illegible].[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	1	7	55	13	1[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
10	10	69	[illegible]	[illegible]	1	7	56	13	62.767	-[illegible].[illegible]	179.[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	1	7	56	[illegible]	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
5	11	69	21	200	1	8	25	14	281.[illegible]	-2.[illegible]	[illegible].[illegible]
5	11	69	21	[illegible]	1	8	[illegible]	14	[illegible].[illegible]	-2.[illegible]	[illegible].[illegible]
5	11	69	21	[illegible]	1	8	[illegible]	14	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
10	11	69	[illegible]	[illegible]	5	[illegible]	[illegible]	[illegible]	352.[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
10	11	69	[illegible]	[illegible]	5	[illegible]	[illegible]	[illegible]	353.[illegible]	-[illegible].[illegible]	347.[illegible]
10	11	69	[illegible]	[illegible]	5	8	[illegible]	[illegible]	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
15	11	69	[illegible]	[illegible]	5	7	[illegible]	[illegible]	151.751	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
15	11	69	[illegible]	[illegible]	5	7	26	[illegible]	152.[illegible]	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
15	11	[illegible]	[illegible]	[illegible]	5	7	26	[illegible]	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
15	11	69	[illegible]	[illegible]	[illegible]	11	25	17	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
15	11	69	[illegible]	[illegible]	[illegible]	11	25	17	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
15	11	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	11	25	17	[illegible].[illegible]	-7.[illegible]	[illegible].[illegible]
10	11	69	21	200	5	[illegible]	13	16	117.[illegible]	-2.257	116.[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	5	[illegible]	13	[illegible]	115.[illegible]	-1.[illegible]	115.471
10	11	69	[illegible]	[illegible]	5	5	13	16	0.013	-7.302	1.052
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
7	2	70	21	200	[illegible]	[illegible]	17	[illegible]	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
7	2	70	21	200	[illegible]	[illegible]	17	[illegible]	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]
7	2	70	21	200	[illegible]	[illegible]	17	[illegible]	[illegible].[illegible]	-[illegible].[illegible]	[illegible].[illegible]

Tab. 10b

Substanz: 2.4 - Dinitrophenol

13	14	15	16	17	18	19
17.367	[illegible]	[illegible]	92.[illegible]	-9.545	5.478	0.250
17.975	[illegible]	7.[illegible]	35.095	-9.972	5.591	0.250
1.400	[illegible]	150.000	711.874	-723.579	0.025	0.350
0.012	0.011	4.[illegible]	0.020	-0.003	0.004	0.333
34.479	54.059	21.515	146.833	-13.262	60.960	0.071
[illegible]	[illegible]	34.567	73.608	-2.470	23.707	0.190
10.561	[illegible].075	5.450	79.377	-15.604	24.255	0.615
10.55[illegible]	[illegible].224	5.410	73.638	-15.893	23.833	0.615
2.055	0.010	12.0[illegible]	0.017	-0.006	0.011	0.615
15.571	40.[illegible]7	6.205	102.207	-12.114	4.975	0.294
15.002	39.048	6.187	104.197	-12.427	5.192	0.294
[illegible]	0.130	12.[illegible]	0.134	-0.002	0.015	0.705
41.789	16.564	23.131	44.683	-2.499	5.910	0.257
16.225	24.003	7.511	45.114	-5.585	2.580	0.552
15.841	23.026	7.214	45.414	-5.808	2.616	0.552
[illegible]	0.005	18.045	0.036	-0.009	0.010	0.552
[illegible]	27.527	4.571	121.346	-23.745	14.466	0.400
[illegible]	27.560	4.[illegible]	122.774	-23.529	13.931	0.400
[illegible]	0.007	[illegible]	0.093	-0.042	0.013	0.400
[illegible]	26.541	[illegible]	572.156	-104.495	10.408	0.400
[illegible]	26.521	1.271	565.[illegible]	-1[illegible]2.621	10.422	0.400
7.[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.192	-0.007	0.014	[illegible]
[illegible]	155.[illegible]	20.567	61.132	-11.199	12.157	[illegible]
[illegible]	[illegible]	24.451	[illegible]	-0.070	31.701	[illegible]
14.[illegible]	[illegible]	35.540	0.172	-0.042	30.375	0.156
18.927	61.975	7.612	2[illegible].104	-25.371	15.016	0.550
15.302	[illegible]	7.75[illegible]	[illegible].753	-24.705	14.232	0.550
[illegible]	[illegible]	[illegible]	0.1[illegible]	-0.011	0.015	0.500
[illegible]	[illegible]	3.760	243.307	-73.901	23.027	0.500
3.25[illegible]	55.[illegible]	3.762	245.113	-74.409	24.159	0.500
11.[illegible]	0.125	7.[illegible]	0.147	-0.011	0.022	0.700
13.55[illegible]	26.5[illegible]	2.655	142.991	-14.679	10.424	0.200
13.147	26.[illegible]	3.0[illegible]	157.040	-14.452	10.256	0.200
31.51[illegible]	0.075	10.5[illegible]	0.124	-0.006	0.027	0.500
10.[illegible]	87.025	1.641	952.595	-245.799	113.465	0.567
10.461	87.499	1.657	949.2[illegible]	-245.077	113.352	0.567
22.961	0.001	11.704	0.011	-0.002	0.005	0.567
-12.737	23.367	5.096	65.911	-17.668	5.766	0.500
-15.908	16.762	5.659	55.857	-17.729	5.738	0.500
1.412	0.019	10.595	0.017	-0.007	0.002	0.500
9.466	11.352	4.5[illegible]	54.791	-8.349	2.725	0.500
9.732	10.364	4.355	55.[illegible]	-8.978	2.616	0.500
75.934	0.000	0.040	0.523	-0.185	0.126	0.400
9.701	5.988	3.364	50.214	-8.042	2.236	0.500
9.654	5.622	3.247	50.795	-8.527	2.422	0.500
8.563	0.194	3.626	0.677	-0.192	0.109	0.500

Je enger die Korrelation zwischen den obengenannten Parametern (s. Abb. 33) und der Konzentration der Testsubstanz ist, desto genauer läßt sich etwas über deren Einfluß auf die Innenohrfunktion aussagen. Ist der Korrelationskoeffizient 0 kann keine Aussage gemacht werden. Die Korrelationskoeffizienten sind nachfolgend aufgeführt:

	3-Glucosamin + 6-Glucosamin			Kanamycin		
Korrelationskoeffizienten für:	A_1	A_2	B	A_1	A_2	B
x_{max}	0.48	0.04	0.17	0.42	0.03	0.28
x_{min}	0.65	0.61	0.10	0.04	0.08	0.25
x_{wpkt}	0.25	0.02	0.11	0.01	0.67	0.26
y_{min}	0.26	0.30	0.33	0.71	0.55	0.20
$y_{max}-y_{min}$	0.04	0.01	0.13	0.21	0.68	0.04
$y_{max}-y_{wpkt}$	0.48	0.47	0.13	0.68	0.70	0.11
$\frac{y_{max} - y_{min}}{y_{max}}$	0.25	0.18	0.21	0.11	0.22	0.32
$\frac{y_{max} - y_{wpkt}}{y_{max}}$	0.67	0.69	0.21	0.01	0.46	0.45
St. Wpkt	0.66	0.68	0.37	0.59	0.21	0.26
$\frac{St.Wpkt}{y_{max}}$	0.77	0.81	0.36	0.27	0.37	0.12
Mittlere Konzentration		807.99			766,66	

Der Zusammenhang zwischen Toxizität und Konzentration spiegelt sich bei dem Gemisch von 3-Glucosamin und 6-Glucosamin in erster Linie in den Parametern $St.Wpkt/y_{max}$, St. Wpkt, $y_{max}-y_{wpkt}/y_{max}$ und y_{min} nieder.

Bei Kanamycin zeigt sich dieser Zusammenhang vor allem für die Parameter y_{min}, y_{max}-y_{wpkt} und St. Wpkt.

Da die Versuche mit 2, 4-Dinitrophenol und 3-Glucosamin bei jeweils konstanten Konzentrationen durchgeführt wurden, konnten keine Korrelationskoeffizienten ermittelt werden. Nachdem aber nun bekannt ist, daß die Toxizität besonderen Einfluß auf die Steigung der Wendetangente hat, wurde auch hier dieses Toxizitätsmaß für eine definierte Konzentration übernommen. Sie beträgt bei 2, 4-Dinitrophenol (20 mg% = 1, 09 mMol/l) -9, 88 bei einer Standardabweichung von 4, 71. Bei 3-Glucosamin (600 mg% = 27, 82 mMol/l) ergaben sich -2, 34 für die Steigung im Wendepunkt bei einer Standardabweichung von 1, 34.

VI. DISKUSSION

A) METHODE

Mit Hilfe der Perfusionstechnik ist es möglich, den Perilymphraum mit Lösungen exakt definierter und reproduzierbarer Konzentration zu füllen, so daß sich Testsubstanzen in extreme Nähe des Wirkungsortes bringen lassen. Die Registrierung des Mikrophonpotentials bei Schalldruckvariation ist eine einfache Methode, um das elektrophysiologische und letztlich biochemische Verhalten der Cochlea unter Einfluß dieser Testsubstanzen beobachten zu können. Auf diese Weise wird es möglich, schnell und präzise eine Information über die chemische Beeinflußbarkeit der Innenohrleistung zu bekommen und damit auch über die Ototoxizität bestimmter Substanzen. Die Versuchsbedingungen wie Narkose des Tieres, Infektionsgefahr der freigelegten Körperregion, kontinuierliches Schalltrauma der Cochlea gestatten nur die Durchführung eines zeitlich eng begrenzten Versuches. Eine Aussage kann somit nur über die unmittelbare Wirkung einer Substanz gemacht werden. Zur Beurteilung von Spätwirkungen einer Substanz ist diese Versuchsdurchführung ungeeignet. Die Methode bietet eine Möglichkeit, die fast täglich neu auf den Markt kommenden Arzneimittel auf ihre unmittelbare Innenohrkompatibilität zu testen.

B) KANAMYCIN UND SEINE SPALTPRODUKTE

Der Einfluß von Kanamycin, 3-Glucosamin + 6-Glucosamin (1 : 1) und 3-Glucosamin auf die Mikrophonpotentiale ist auch unter Berücksichtigung einer gewissen Osmolarität der Lösung evident.

Bei Perfusion der Meerschweinchencochlea mit Kanamycin kommt es auch im Kurzzeitversuch zu einem deutlichen Abfall der Microphonics. Die Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit den Befunden, die bereits früher nach subkutaner oder intraperitonealer Applikation der Testsubstanz über längere Zeit erreicht wurden (OWADA, THYBERGHEIN,

HAWKINS, TEISSING und U.O. KEIDEL, PLATTIG et al., OUCHI und J. OTHANIE, KOIDE).

Nach Perfusion des 1:1-Gemisches von 3-Glucosamin und 6-Glucosamin kommt es bei sämtlichen Konzentrationen zu einem Abfall der Parameter.

Die Steigung der Wendepunktstangente des zeitlichen Verlaufs der A-Parameter kann in grober Annäherung als Toxizitätsmaß der Testsubstanzen herangezogen werden. Sie beträgt bei Kanamycin (mittlere Konzentration 766,7 mg% = 12,76 mMol/l) -7,43, bei dem Gemisch von 3-Glucosamin und 6-Glucosamin (mittlere Konzentration 808 mg% = 37,46 mMol/l) -17,77 und bei 3-Glucosamin (Konzentration 600 mg% = 27,82 mMol/l) -2,43. Ein quantitativer Toxizitätsvergleich zeigt, daß das Gemisch eine um mehr als den Faktor 2 stärkere Wirkung hat als Kanamycin. Dagegen war die Toxizität von 3-Glucosamin nur etwa ein Drittel so stark wie die von Kanamycin. In diesem Punkt differieren die Messungen etwas von OWADAs Langzeitversuchen. Bei seinen Versuchen wurden die Mikrophonpotentiale durch 3-Glucosamin noch stärker gesenkt als durch Kanamycin.

Der Abfall der Parameter, unmittelbar nach Zugabe der Testsubstanz, ist als Zeichen der Leistungsminderung des Innenohres zu werten. Da die Proteinsynthese in Gegenwart von Streptomycin oder Kanamycin momentan gehemmt wird (DELLWEG), könnten Folgereaktionen Ursache der Schädigung sein. Von Spaltprodukten des Kanamycins, die ebenfalls einen Einfluß auf das Innenohr haben, ist dies nicht bekannt, so daß die Wirkung vermutlich anders zu begründen ist. Bei der unmittelbaren Reaktion müßte man in erster Linie an Permeabilitätsänderungen denken, die sich schlecht durch Syntheseänderung erklären lassen.

Eine Überosmolarität der Perfusionslösungen kann mit großer Wahrscheinlichkeit als Ototoxizitätsursache ausgeschlossen werden. JUNG konnte bei der Perfusion mit Harnstofflösungen zeigen, daß Überosmolaritäten von 66,3 mval/l in der Perilymphe einwandfrei toleriert werden. Allein die Perfusionen mit dem 1:1 Gemisch von 3-Glucosamin und 6-Glucosamin wiesen bei einer Konzentration von 1250 mg% = 57,97

mMol/l und 1350 mg% = 62,60 mMol/l eine größere Osmolarität auf.

Nach der erneuten Zugabe von Ringerlösung (bei den 3-Glucosamin-Versuchen nicht praktiziert) konnte stets eine partielle Regeneration der Mikrophonpotentiale oder doch zumindest eine Stagnation des Abfalls erreicht werden.

Bei der mathematischen Auswertung der Versuchsergebnisse wurde folgende Gleichung herangezogen:

$$CM = U = A_1 + A_2 . e^{B.p}$$

Wenn unter CM die abgeleitete Effektivspannung verstanden wird, beschreibt die Gleichung deren Verlauf bei Schalldruckvariation für eine Haarzellpopulation. Es gibt nun aber verschiedene Hinweise, die zur Annahme von mindestens zwei Haarzellpopulationen sprechen:

I Eine differente anatomische Anordnung der inneren und äußeren Haarzellen.

II Eine differente nervale Versorgung der inneren und äußeren Haarzellen.

III Eine differente Sensibilität der inneren und äußeren Haarzellen gegenüber Kanamycin.

So ist hinreichend bekannt, daß sich die ersten faßbaren, pathologischen Veränderungen an den äußeren Haarzellen finden. (BECK und KRAHL, HAWKINS und ENGSTRÖM, LUNDQUIST und WERSÄLL, FARASHIDY, OSTYN und THYBERGHEIN).

Bei der Existenz von zwei Haarzellpopulationen, müßte obige Gleichung wie folgt erweitert werden:

$$CM = U = A_1 + A_2 . e^{B_1 . p} + A_3 . e^{B_2 . p}$$

Aus rechnerischen Gründen mußte zunächst auf eine Auswertung nach dieser Funktion verzichtet werden.

C) 2,4-DINITROPHENOL

Die bisher durchgeführten Untersuchungen der Mikrophonpotentiale unter Anoxiebedingungen zeigen übereinstimmend, daß die Mikrophonpotentiale von einer gleichmäßigen Sauerstoffzufuhr abhängig sind. (VOSTEEN, MISRAHY, H.J. GERHARDT und H. WAGNER, R. THALMANN et al.).

Durch die Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung mit 2,4-DNP ist es möglich, die sauerstoffabhängige Energiequelle der aeroben Zelle auszuschalten. Neben dieser blockierenden Wirkung findet sich eine von der DNP-Konzentration abhängige Aktivierung einiger ATPasen, z.B. in den Lebermitochondrien, die vorhandenes ATP zersetzen können. Bei hoher DNP-Konzentration kann eine Hemmung der ATPase-Aktivität auftreten. Über die Beeinflussung der den Na^+- und K^+-Austausch aktivierenden Membran-ATPase ist bislang noch wenig bekannt. Durch Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung und der selektiven Zersetzung des in den Mitochondrien gebildeten ATP's ist man in der Lage, genau definierte Stoffwechselprozesse zu blockieren, die nur unter Sauerstoffeinfluß ablaufen. Andere praktizierte Methoden wie die Abklemmung der Trachea oder die temporäre Erhöhung des Innenohrdruckes sind hinsichtlich ihrer Wirkungsweise, ihres Angriffspunktes und der nachfolgenden Sekundärreaktionen nicht genau zu charakterisieren.

Die hier vorgenommenen Perfusionsversuche mit 2,4-DNP bei einer Konzentration von 20 mg% = 1,09 mMol/l führen stets zu einem ausgeprägten Abfall der Parameter. Der Abfall setzt sofort nach Zugabe der Testsubstanz ein. Als Toxizitätsmaß dient auch hier wieder die Steigung der Wendepunktstangente. Sie beträgt bei dieser Konzentration von 1,09 mMol/l -10 ± 5. Die erneute Zugabe von Ringerlösung zeigte in jedem Fall, daß es zu einer partiellen Regeneration der Mikrophonpotentiale kommt. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von PRAZMA sowie denen von HODKIN und KEYNES überein.

Bei etwa 80 % der Tiere erfolgte sofort nach Zugabe von 2,4-DNP ein Anstieg der Parameter, der 1 - 3 Minuten anhielt, um dann in den ab-

rupten Parameterabfall überzugehen. THALMANN et al. haben den Einfluß von Druckänderungen in der Schnecke auf die Mikrophonpotentiale untersucht. Sie konnten nachweisen, daß es bei geringen Drucksteigerungen (10 - 50 mm Hg) zu einer Potentialvergrößerung kommen kann. In unseren Versuchen wurden allerdings solche geringfügige Druckänderungen, wie sie durch den Austausch des Vorratsgefäßes ausgelöst wurden, nur in Veränderungen des B-Parameters festgestellt. Eine weitere physikalische Komponente, die an dieser kurzfristigen Potentialerhöhung beteiligt sein kann, wäre eine geringe Hyperthermie in der Cochlea. Durch Blockade der Atmungskettenphosphorylierung mit 2, 4-DNP wird die Oxydationsenergie vollständig als Wärme frei. Hierdurch könnten kurzfristig Stoffwechselvorgänge angeregt werden die zu diesem Potentialanstieg führen.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 65 Meerschweinchen wurde unter Urethan-Narkose der Verlauf des Mikrophonpotentials abgeleitet, der sich bei einer 1250 Hz Reintonbeschallung mit variabler Lautstärke ergab. Die Beschallungsdauer betrug 30 - 70 Sekunden. Anschließend folgte ein ruhiges Intervall von 1,5 - 4 Minuten. Die gesamte Versuchsdauer lag bei 1 - 3 Stunden. Die isolierte Ableiteelektrode aus Silber (Durchmesser 0,1 mm) war im Bereich der dritten Windung auf die Cochlea aufgesetzt und mit Histoacryl-N-azul (Fa. Braun Melsungen) auf dieser und an dem Bullarand fixiert.

Während der Registrierung der Mikrophonpotentiale wurde eine Perfusion des gesamten Perilymphraumes der Cochlea vorgenommen. (Via Scala tympani der Basalwindung - Helicotrema - Scala vestibuli der Basalwindung). Die Durchflußgeschwindigkeit betrug 0,4 bis 2,4 ml/h. Grundsätzlich wurde folgendes Perfusionsschema eingehalten:

1) Isotonische Ringerlösung DAB 7
2) Testsubstanz
3) Isotonische Ringerlösung DAB 7

Nach Übertragung der Zahlenwerte auf Datenträger erfolgte die mathematische Auswertung auf einer IBM 1800.

Folgende Testsubstanzen wurden perfundiert:

I. Kanamycin "Grünenthal"

Konzentrationen: 100 mg% = 1,67 mMol/l, 500 mg% = 8,33 mMol/l,
800 mg% = 13,32 mMol/l, 1200 mg% = 19,98 mMol/l.

Versuchsanzahl: 20

Resultat: Eine Korrelation zwischen Toxizität sowie Struktur und Konzentration dieser Substanz zeigt sich vor allem für die Parameter y_{min}, $y_{max} - y_{wpkt}$ und St. Wpkt. Die durchschnittliche Steigung der Wendetangente beträgt -7,43 bei einer Standardabweichung von 5.08.

II. 1:1 - Gemisch von 3-Glucosamin und 6-Glucosamin

Konzentrationen: 350 mg% = 16,23 mMol/l, 370 mg% = 17,16 mMol/l
720 mg% = 33,39 mMol/l, 1250 mg% = 57,97 mMol/l
1350 mg% = 62,60 mMol/l.

Versuchsanzahl: 20

Resultat: Ein Zusammenhang zwischen Toxizität und Konzentration der Substanz zeigt sich hier in erster Linie für die Parameter St.Wpkt./y_{max}, St.Wpkt., y_{max}-y_{wpkt}/y_{max} und y_{min}.

Die gemittelte Steigung der Wendetangente beträgt -17,77 bei einer Standardabweichung von 14.20.

III. 3-Glucosamin

Konzentration: 600 mg% = 27,93 mMol/l.

Versuchsanzahl: 5

Resultat: Die Steigung der Wendepunktstangente beträgt -2,34 und die dazugehörige Standardabweichung 1,34.

IV. 2,4-Dinitrophenol

Konzentration: 20 mg% = 1,09 mMol/l

Versuchsanzahl: 20

Resultat: Mit dieser Substanz wurde eine Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung im Innenohr durchgeführt. Die gemittelte Steigung der Wendepunktstangente beträgt -9,88 bei einer Standardabweichung von 4,71.

In Unkenntnis der schwierigen Berechnung des zeitlichen Verlaufs der Parameter A_1, A_2 und B wurden in einigen Versuchen zu wenige Meßzyklen unter konstanten Versuchsbedingungen aufgenommen, so daß der Fehler des Abfallparameters (z.B. Steigung der Wendepunktstangente) erheblich ist. Eine Verbesserung in dieser Hinsicht ist nur durch eine weitere Automatisation möglich, um eine Verkürzung von Beschallungsdauer und Gesamtzyklus zu erreichen.

Herrn Professor Dr. med. H. Wullstein danke ich für die Überlassung des Themas sowie für die großzügigen Arbeitsbedingungen, die mir in seiner Klinik gewährt wurden.

Herrn Dr. rer. nat. K. Schindler möchte ich für die ständige Unterstützung und die vielen wertvollen Anregungen sowie für die Hilfe bei der Auswertung dieser Arbeit meinen ergebensten Dank aussprechen.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

1) BECK, Chl., P.KRAHL: Experimentelle und feingewebliche Untersuchungen über die Ototoxizität von Kanamycin.
Archiv Ohren - usw. Heilk. und Z. Hals- usw. Heilk. 179, 594-610 (1962)

2) BENITEZ, J.T., H.F. SCHUHKNECHT, J.H. BRANDENBURG: Pathologic changes in human ear after kanamycin.
Arch. Otolaryngol. 75, 192-197 (1962)

3) BRUN, J.P., et al.: Quantitative evaluation of hair cell damage following treatment with kanamycin-sulfate, kanamycinmonopantothenate and ozothin.
Arch. Klin. Exp. Ohr-, Nas.-Kehlkopfheil. 194 (1969)

4) DELLWEG, H.: Neuere Aspekte zur Wirkungsweise einiger Antibiotika.
Deutsche Med. Wochenschrift 91, 697 (1966)

5) FARASHIDY, J., R.G. BLACK, T.D.R. BRIANT: The effect of kanamycin on the internal ear. An elektrophysiological and elektron microscopy study.
The Laryngoscope 73, 713-727 (1963)

6) GERHARDT, H.J., H. WAGNER: Die Mikrophonpotentiale der Meerschweinchenschnecke unter Anoxie und Belastung mit Reintönen verschiedener Intensitäten.
Arch. HNO, 181, 426 - 436 (1963)

7) GILMOUR, D., M. GRIFFITHS: The action of 2,4 - DNP on myosin.
Arch. Biochem. Biophys. 72, 302 (1957)

8) GOODMANN, L.S., A. GILLMAN: The Pharmacological Basis of Therapeutics.
Third Edition 1965

9) GRABE, B.: A revised and more detailed hypothesis for the mechanism of oxidative phosphorylation at the diphosphopyridine nucleotid-flavin level.
J. Theoret Biol. 7, 112-22 (1964)

10) HAWKINS, J.E.: The ototoxicity of kanamycin. Ann. Otol. (St. Louis), 68, 698 (1959)

11) HAWKINS, J.E. jr., H. ENGSTRÖM: Effect of kanamycin on cochlear cytoarchitecture. Acta Otolaryng. Suppl. 198, 100 (1964)

12) HELWIG, H.: Antibiotika - Chemotherapeutika. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1970)

13) HEMKER, H.C.: The contribution of the various phosphorylating steps in the respiratory chain to the dinitrophenol-induced ATPase of rat-liver mitochondria. Biochim. Biophys. Acta 73, 311 - 323 (1963)

14) HODGKIN, A.L., R.D. KEYNES: Active transport of cations in giant axons from Sepia and Loligo. J. Physiol. (Lond.) 128: 28 (1955)

15) v. ILBERG, C.H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Diffusion und Resorption von Thoriumdioxyd an der Meerschweinchenschnecke. Arch. klin. exp. Ohr-Nas.-u. Kehlk.-Heilk. 192: 384-400 (1968)

16) JONES, O.T.G., W.A. WATSON: Activity of 2-trifluoromethylbenzimidazoles as uncouplers of oxidative phosphorylation. Nature 208, 1169 (1965)

17) JUNG, W.: Zur Abschätzung von Störeinflüssen auf die CM-Potentiale beim Meerschweinchen. III. Internat. Symposium über Cochleaforschung, Halle, April 1971

18) JUNG, W., W. MACHOLD: Zum Einfluß von Salidiuretika auf die Cochlea-Mikrophonpotentiale beim Meerschweinchen. Arch. klin. exp. Ohr.-Nas.-u. Kehlk.-Heilk. 196: 307-314 (1970)

19) KOHONEN, A., J.V. TARKKANEN: Dihydrostreptomycin and kanamycin ototoxicity, an experimental study by surface preparation technique. Laryngoscope 76: 1671-1680 (1966)

20) KOIDE, Y., R.STERN, H.K. ROESLER, J.F. DALY: Studies on suspectibility to kanamycin; histopathological and elektrophysiological observations. Laryngoscope 76: 1769-1785 (1966)

21) KORTÜM, G., W.VOGEL, K. ANDRUSSOW: Dissociation constants of organic acids in aequeous solution. London, Butterworths, 1961

22) KUNTZ, E.: Klinische Untersuchungen zur Nephrotoxizität von Kanamycin. Klin. Wochenschrift 40: 830-834 (1962)

23) LAGLER, F., G. OSTERLOH, H. MÜCKTER: Zur Pharmakologie und Verträglichkeit von Kanamycin. Med. Welt 29/30: 1518-1523 (1960)

24) LEGOUIX, J.P., H. MOULONGUET: Modification des potentiels cochléaires chez la Cobaye pendant l'anesthésie à l'éthylurethane. C.R. Soc. Biol., 151: 1847 (1957) Paris

25) LEHNINGER, A.L.: Bioenergetik. Molekulare Grundlagen der biologischen Energieumwandlung. G. Thieme Verlag. Stuttgart (1970)

26) LICHSTEIN, H.C., R.F. GILFILLAN: Inhibition of pantothenate synthesis by streptomycin. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 77, 459-461 (1951)

27) LUNDQUIST, P.-G., J. WERSÄLL: Kanamycin-induced changes in cochlear hair cells of the guinea pig. Zeitschrift für Zellforschung 72: 543-561 (1966)

28) MATZ, G.J., T.H. WALLACE, P.H. WARD: The ototoxicity of kanamycin. A comparative histopathological study. Laryngoscope 75: 1690-1698 (1965)

29) MISRAHY, G.H., B.R. DE JANGE, E.W. SHINABERGER, J.E. ARNOLD: Effects of localized hypoxia on the elektrophysiological activity of the cochlea of the guinea pig. The Journal of the Acoustical society of America. Vol. 20, No 8, 705 (1958) Aug.

30) MIZUKOSHI, O., F.J. DALY: Oxygen consumption in normal and kanamycin damaged cochleae. Acta oto.-laryng.(Stockh.) 64: 45-54 (1967)

31) MOESCHLIN. S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen. Vierte, neubearbeitete und erweiterte Auflage. G. Thieme Verlag, Stuttgart (1964)

32) MÜCKTER, H.: Zur Pharmakologie der basischen Streptomyces-Antibiotika. Antibiotika et Chemotherapeutica 9: 83 - 144 (1961)

33) MYERS, D.K., E.C. SLATER: The enzymic hydrolysis of adenosine triphosphate by liver mitochondria. Biochem. J. 67, 558 - 571 (1957)

34) OSTYN, F., J. THYBERGHEIN: Influence of some streptomyces antibiotics on the inner ear of the guinea pig. Acta oto.-laryng. Suppl. 234: 1-91 (1968)

35) OUCHI, J., J. OTHANI: Studies on the ototoxicity of kanamycin. The correlation between elektrophysiological findings and histopathological changes. Pract.oto.-rhino.-laryng. 31: 218-233 (1969)

36) OWADA, K.: Experimental studies on the toxicity of kanamycin, its hydrolyzed products and neomycin. Chemotherapia 5: 277-293 (1962)

37) PERRY, S.V., J.B. CHAPPELL: The action of 2,4-DNP on myosin and mitochondrial adenosine triphosphatase systems. Biochem. J. 65, 469 (1957)

38) PINCHOT, G.B.: The mechanism of uncoupling of oxidative phosphorylation by 2,4-Dinitrophenol. J. of Biol. Chem. 242: 4577-4583 (1967)

39) PLATTIG, K.H., U.O. KEIDEL, E. DAVID: Minderung der Ototoxizität des Kanamycins durch Pantothensäure. Dtsch. Med. Wochen. 92: 1391-1397 (1967)

40) RAUCH, S.: Biochemie des Hörorganes. G. Thieme Verlag. Stuttgart (1964)

41) RAUEN, H.M.: Biochemisches Taschenbuch. Erster Teil, Zweite Auflage. Springer Verlag (1964)

42) REDDY, J.: Response of the inner ear of domestic cats to ototoxic drugs. Proc. 8. Internat. Congr. OR L Tokyo 503-505 (1966)

43) STUPP, H.F.: Studies on the concentration of aminoglycoside antibiotics in the labyrinthine fluids and their significanse antibiotics. Acta Otolaryng (Stockholm) Suppl. 262: 1+, (1970)

44) STUPP, H., S.RAUCH, H.SOUS, F.LAGLER, J.-P. BRUN: Die Ursache der spezifischen Ototoxizität der basischen Streptomyces-Antibiotika - ein Permeabilitätsproblem. Méd. et Hyg. 23: 988-990 (1965)

45) STUPP, H., S.RAUCH, H.SOUS, H.P.BRUN, F.LAGLER: Kanamycin dosage and levels in ear and other organs. Arch. Otolaryng. 86: 515-521 (1967)

46) THALMANN, R., H. BORNSCHEIN, F. KREJCI: The behavior of the cochlear microphonic potentials in temporary increases of internal ear pressure. Acta Otolaryng (Stockholm) 56: 65-74 (1963)

47) THEISSING, J., U.O. KEIDEL: Zur Beeinflussung des Statoacusticus-Systems durch basische Antibiotika. Arzneim.-Forsch. (DrugRes.) 12: 543-545 (1962)

48) THYBERGHEIN, J.: Einfluß der Pantothensäure auf die Ototoxizität des Kanamycins beim Meerschweinchen. Med. Welt 18: 2017-2020 (1967)

49) TISCH, D.E., J.B. HUFTALEN, H.L. DICKISON: Pharmakological studies with kanamycin. Ann. N.J. Acad. Sci. 76: 45 (1958)

50) UMEZAWA, H.: Progress of fundamental studies on kanamycin. Asian Medical Journal Vol. 11/No.2/ (1968)

51) UMEZAWA, H.: Kanamycin its discovery. Ann.N.J.Acad. Sci. 76: 20 - 26 (1958)

52) VOSTEEN, K.H.: Neue Aspekte zur Biologie und Pathologie des Innenohres. Arch.Ohr.Nas.Kehlkopfheilkunde 178: 1 - 104 (1964)

53) VOSTEEN, K.H.: Die Verteilung der Cytochromoxydase in der Meerschweinchenschnecke. Zbl. allg. Path. Anat. 97: 66 (1957)

54) WALTER, A.M., L. HEILMEYER: Antibiotika-Fibel. G. Thieme Verlag Stuttgart, 3.Auflage (1969)

55) WARD, P.H., C. FERNANDEZ: The ototoxicity of kanamycin in guinea pigs. Ann. Otol. Rhinol. and Laryngol. 70: 132 - 143 (1964)

56) WATANUKI, K., S. RAUCH: Degeneration and regeneration process of the organ of Corti in kanamycin-ototoxicosis. Pract. oto-rhino-laryng (Basel) 31: 84 - 91 (1969)

57) WEVER, E.G., C.W. BRAY: Action currents in the auditory nerve in response to acoustic stimulation. Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A. 16: 344-350 (1930)

LEBENSLAUF

Am 25. Dezember 1945 wurde ich als Sohn des Zimmermanns Julius Elser und dessen Ehefrau Josefine, geborene Seitz, in Heilbronn am Neckar geboren.

In Heilbronn besuchte ich zunächst die Grundschule, von der ich nach Beendigung der 4. Klasse in das Robert-Mayer-Gymnasium Heilbronn übertrat. An dieser Schule legte ich im Frühjahr 1965 die Reifeprüfung ab.

Im April 1965 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Stgt.-Hohenheim. Dort legte ich dann auch im Frühjahr 1966 die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. Die weiteren vorklinischen Studien absolvierte ich an der Universität Freiburg. Nach bestandener ärztlicher Vorprüfung im März 1968 setzte ich mein Studium an der Universität Würzburg fort. Im Sommer 1971 legte ich dort die ärztliche Prüfung mit Erfolg ab. Die ersten vier Monate meiner Medizinalassistentenzeit verbrachte ich an der Universitäts-Frauenklinik Würzburg. Seit Januar 1972 bin ich auf der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Möckmühl tätig.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die Dissertation selbständig angefertigt, dabei keine anderen Hilfsmittel als die im Quellen- und Literaturverzeichnis und in den Anmerkungen genannten benutzt, alle aus Quellen- und Literaturverzeichnis ganz oder annähernd entnommene Stellen als solche kenntlich gemacht und einzeln auch die Fundstellen nachgewiesen habe.

Ich habe die Dissertation noch keiner anderen Fakultät vorgelegt mit dem Ziel, einen akademischen Grad zu erwerben.

Würzburg, den 28. 5. 1972

Kurt Elser